

چکیده

زمینه و هدف: انسان از بدو خلقت همیشه در معرض حوادثی منجر به زخم بوده است. تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه تأثیر انواع داروها در درمان انواع زخم ها صورت گرفته است. در این مطالعه سعی شده که اثر نانو ذرات نقره خوراکی را در روند بهبود زخم در موش صحرایی نر را بررسی نماییم

مواد و روش: ادر این روش ۳۰ موش نر از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب شد که در ۳ گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند. گروه اول گروه کنترل، گروه دوم با 30ppm نانوذره و گروه سوم با 60ppm نانوذره تحت بررسی قرار گرفتند. ابتدا به روش استریل زخم یکسان استریل یک زخم مدور به ضخامت اپیدرم و درم با قطر ۲ سانتی متر پشت گردن حیوانات ایجاد شد. سپس تحت مراقبت انفرادی در شرایط یکسان تغذیه و محیط قرار گرفتند از آمار توصیفی و تحلیلی برای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. ($p \text{ value} < .005$)

یافته ها: درصد بهبودی زخم و در روز ۱۲ بین گروه کنترل و گروه های تحت تیمار با نانوذرات نقره تفاوت معنی دار نشان داد ($p < .001$). در روز دوازدهم تیمار حیوانات تحت بررسی بین همه گروه های تحت تیمار و گروه کنترل تفاوت درصد بهبودی با $P < 0.001$ معنی دار بود. همچنین میزان سلولهای التهابی (ماست سل، ائوزینوفیل ها، پلی مورفونوکلیتور ها) در گروه کنترل در روز دوازدهم بیشتر از گروه های تیمار بود که اختلاف معنی داری را نشان می داد. ($p < 0.001$). اختلاف معنی داری در میزان اپی تلیازیسین و بافت جوانه گوشتی بین گروه ها (با توجه به نزدیک بودن میانگین گروه ها) مشاهده نشد. میزان دانسیته کلاژن و میزان فیبروبلاست اختلاف معنی داری در گروه های تیمار نسبت به کنترل و نشان می دهد ($p < 0.001$). اختلاف معنی دار در میزان سلول های التهابی و میزان فیبروبلاست ها در روز دوازدهم در گروه های 60ppm نسبت به 30PPM مشاهده شد که نشان دهنده اثرات سیتوتوکسیک در غلظت 60PPM و بالا می باشد.

نتیجه گیری: نانوذرات نقره با غلظت ۳۰ppm با القای اثرات ضد التهابی، افزایش تکثیر سلول های فیبروبلاست و بیان کلاژن تسریع روند بهبود زخم را به دنبال دارد.

کلمات کلیدی: نانوذرات نقره، بهبودی زخم، سیتوتوکسیسیتی، فیبروبلاست، کلاژن

فصل اول :

مقدمه

زخم، نسج گسیخته شده ای است که به سبب عوامل مختلف پیوستگی خود را از دست داده باشد. انسان از بدو خلقت همیشه در معرض حوادثی منجر به زخم بوده است. امروزه زخم و ترمیم آن جایگاه ویژه ای از نظر اهمیت به خود اختصاص داده است. التیام زخم یک پاسخ دینامیک به آسیب بوده که پیچیده و منظم است و مستلزم تعامل بین انواع مختلف سلول ها، پروتئین های ساختمانی، فاکتورهای رشد و پروتئیناز می باشد. سلول های ماست سل و ماکروفاژ نقش مهمی در ترمیم زخم دارند. (۱) در ناحیه زخم، سیستم گردش خون و CO₂ متحمل آسیب زیادی شده که نتیجه آن هیپوکسی و افزایش تولید اسید لاکتیک است. به دنبال هایپوکسی و افزایش لاکتات ارسال پیام از سلول های آن ناحیه منجر به رگزایی شده و فیبروبلاست ها با ایجاد چارچوب پیوندی رگ های خونی جدید را حمایت کنند (۲) در زخم باز، مویرگهای خونی هم جهت با سلول های مهاجر همسایه در آمیخته و بافت گرانوله شکل می گیرد. جمعیت متراکم ماکروفاژها، فیبروبلاست ها و رگ های خونی را که در ماتریکس فیبرونکتین کلاژن و هیالورونیک اسید نفوذ کرده را بافت گرانوله می گویند که از فرط فراوانی رگ خونی یک بافت گرانوله با دانه های فراوان ایجاد می کند (۳) هر عاملی که رگ زایی را تشدید کند موجب تسریع بهبود زخم می شود. شروع ساخته شدن رگ همزمان با فاز فیبروبلاستی است. فیبروبلاست های به وجود آورنده بافت جدید، در عرض ۲ تا ۳ روز ظاهر شده و در هفته اول در بیشترین مقدار خود هستند.

سنتز لاکتات به وسیله ماکروفاژها، اساسی ترین عامل تحریک فیبروبلاست است. فیبروبلاست ها مقادیر زیادی ماتریکس پروتئینی رسوب می دهند که در آن کلاژن فراوان بوده و قدرت کشش پوست را افزایش می دهد. تجدید اپیدرم بعد از یک دوره چند ساعته شروع شده و تا زمانی که کراتینوسیت ها، درم را بپوشانند طول می کشد. ترمیم زخم را به سه فاز التهاب، تکثیر و تجدید ساختار تقسیم می کنند که این سه فاز از هم مستقل نیستند. همه زخم ها صرف نظر از عامل ایجاد شان دارای این سه مرحله هستند (۴) در فاز التهاب طی ۲۴ ساعت اول پس از آسیب نوتروفیل ها به حداکثر رسیده و پس از ۳ روز کاهش می یابند. در عرض ۲۴ تا ۴۸ ساعت ماکروفاژها به حداکثر می رسند و در روز پنجم اکثریت سلول های زخم را تشکیل می دهند. فاز پرولیفراسیون از انتهای دیررس فاز التهاب شروع می شود که روز سوم پس از آسیب است. فیبروبلاست کلاژن و گلیکوزآمینوگلیکان را می سازد. میزان سنتز کلاژن تا سه هفته به طور مداوم زیاد می شود تا یک نقطه تعادل به دست آید یعنی نقطه ای که سنتز و تجزیه کلاژن برابر است (۵) فاز تجدید ساختار سه هفته بعد از آسیب شروع می شود که در آن تعادل بین سنتز و

تجزیه کلاژن وجود دارد، در آن افزایش خالص در محتوی کلاژن وجود ندارد این مرحله تا دو سال طول می کشد و در طی آن کلاژن نوع ۳ به نوع ۱ تبدیل می شود و گلیکوزآمین ها تجزیه شده تا به غلظت موجود در پوست طبیعی برسد. یک دوره تاخیری ۱۰ تا ۱۴ روز در افزایش قدرت کشش وجود دارد بعد از این زمان یک افزایش سریع در آن دیده می شود و ظرف بیش از چهار هفته ۷۰٪ و بعد به تدریج به ۸۰٪ قدرت کشش پوست سالم می رسد ولی هیچوقت از آن بیشتر نمی شود(۵) روش های گوناگون درمان زخم از قدیمی ترین آن یعنی استفاده از صمغ درختان و عسل توسط مصریان باستان و یا عصاره برگ چای توسط چینی ها تا استفاده امروزی از محلول های ضد عفونی همگی در جهت ایجاد زمینه ای مساعد برای سرعت بخشیدن به روند التیام بافت صدمه دیده می باشد.

با توجه به این که نانوذرات نقره ویژگی ها(خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و...) و خاصیت درمانی مشابه دارد. ما نیز در پژوهش حاضر بر آن هستیم تا اثرات مصرف خوراکی نانو ذرات نقره بر روی میزان بهبودی زخم در موش های سفید صحرایی نر را از نظر تغییرات میزان بهبودی زخم بررسی نماییم.

التیام زخم

مراحل التیام زخم

فرآیند طبیعی التیام زخم از یک الگوی قابل پیش بینی تبعیت می کند. مراحل سه گانه ترمیم زخم که بعضاً در قسمتهای اشتراک زمانی دارند عبارتند از : هموستاز و التهاب ، پرولیفراسیون و بلوغ و بازآرایی (remodeling). هموستاز و التهاب

هموستاز پیش از شروع کننده التهاب است. زخمی شدن بافت موجب گسستگی عروق خونی و تماس مستقیم ماتریکس خارج سلولی با پلاکت ها می گردد. مواجهه کلاژن زیر آندوتلیوم با پلاکتها ، آبشار انعقاد را آغاز می

کند. لخته فیبرین به عنوان داربستی برای مهاجرت سلول های التهابی به درون زخم عمل می نماید. PMN ها اولین سلولهای ارتشاحی هستند که وارد زخم شده و طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت به حداکثر تعداد خود می رسند

PMN ها همچنین یک منبع عمده برای سیتوکین ها (بویژه TNF-a) در اوایل التهاب محسوب می شوند و با آزادسازی پروتئازها به تجزیه ماتریکس زخم کمک می کنند. سیتوکین ها سبب تحریک مهاجرت نوتروفیل می شوند و فاکتورهای آزاد شده از نوتروفیل در تاخیر جوش خوردن سطح اپیتلیال زخم نقش دارند.

ماکروفاژها دومین گروه سلول های التهابی هستند که به زخم هجوم آورده ، تعدادشان طی ۴۸ تا ۹۶ ساعت افزایش یافته و تا پایان فرآیند التیام باقی می مانند. ماکروفاژها نیز در دبریدمان زخم شرکت می کنند، اما محوری ترین نقش آنها فعالسازی سایر سلول ها از طریق سیتوکین ها و عوامل رشد می باشد، ضمن اینکه نقش مهمی در تنظیم آنژیوژنز ، رسوب ماتریکس و بازآرایی ایفا می کنند.

لنفوسیت های T گروه دیگری از سلولهای التهابی مهاجم هستند که تعدادشان ظرف یک هفته پس از آسیب به حداکثر رسیده و به عنوان پلی میان مراحل التهاب و پرولیفراسیون ایفای نقش می کنند. اما نقش آنها در ترمیم زخم به طور کامل مشخص نیست.

تزاید (پرولیفراسیون)

این مرحله بین روزهای ۴ تا ۱۲ اتفاق می افتد و طی آن بار دیگر یکپارچگی بافت برقرار می شود. فیبروبلاست ها برای ساخت کلاژن و سلولهای آندوتلیال به منظور آنژیوژنز در مرحله تزاید وارد گود می شوند. همچنین لاکتات در اطراف زخم تجمع پیدا می کند که تنظیم کننده قوی سنتز کلاژن می باشد.

کلاژن به عنوان فراوانترین پروتئین بدن، نقش مهمی در التیام زخم دارد. انواع I (جزء اصلی ماتریکس خارج سلولی پوست) و III در فرآیند ترمیم زخم حائز اهمیتند. ساخت کلاژن به عوامل سیستمیک نظیر اکسیژناسیون کافی ، وجود مواد مغذی و کوفاکتورها و محیط موضعی زخم وابسته است.

گلیکوزآمینوگلیکان ها (GAG) بخش بزرگی از بافت گرانولاسیون را تشکیل می دهند. درماتان و کندرویتین انواع اصلی GAG زخم بوده و توسط فیبروبلاست ها و عمدتاً در ۳ هفته نخست التیام ساخته می شوند. با بلوغ اسکار و بازآرایی کلاژن ، میزان GAG تدریجاً کاهش می یابد.

بلوغ و بازآرایی

بلوغ و بازآرایی اسکار طی مرحله فیروپلازی شروع می شود. قدرت زخم تازه توسط کمیت و کیفیت کلاژن رسوب کرده تعیین می گردد. چند هفته بعد از آسیب ، میزان کلاژن زخم به یک کفه می رسد، اما قدرت کششی آن تا چندین ماه افزایش می یابد. بازآرایی اسکار تا ۶-۱۲ ماه پس از آسیب ادامه یافته و به تدریج یک اسکار بالغ ، فاقد عروق و بدون سلول تشکیل می شود.

نکته : قدرت مکانیکی اسکار هرگز به مانند بافت آسیب ندیده نخواهد شد.

نکته : تعادل میان رسوب و تجزیه کلاژن تعیین کننده نهایی قدرت و تمامیت زخم می باشد .

نکته : تشکیل ماتریکس در زخم بدین صورت است که ابتدا فیبرو نکتین و کلاژن نوع III سپس گلیکوز آمینوگلیکان ها و پروتئوگلیکان ها و در نهایت کلاژن نوع I رسوب می کنند.

اپی تلیالیزاسیون

این فرآیند یک روز پس از آسیب شروع می شود. سلول های بازال حاشیه ای در لبه زخم ، اتصال محکم خود با درم زیرین را از دست داده ، رشد کرده و شروع به مهاجرت در سطح ماتریکس ناحیه می کنند. اپی تلیالیزاسیون مجدد در زخم های پارگی در کمتر از ۴۸ ساعت کامل می گردد، اما در زخم های بزرگتر ، زمان بیشتری می طلبد. اگر فقط اپی تلیوم و درم سطحی تخریب شده باشد (مثل سوختگی های درجه دوم سطحی) ، ترمیم بصورت اپی تلیالیزاسیون مجدد بوده و فیروپلازی و گرانولاسیون در کمترین حد خواهد بود.

جمع شدگی زخم (contraction)

در تمامی زخم ها درجاتی از جمع شدگی اتفاق می افتد. این فرآیند در زخم هایی که لبه های نزدیک به هم ندارند موجب کاهش سطح می شود (ترمیم ثانویه). میوفیبروبلاست ها را مسؤول اصلی جمع شدگی زخم دانسته اند.

بیماریهای ارثی بافت همبند

اهلرز دانلوس

مشخصه آن اشکال در ساخت کلاژن است. مشخصات این بیماران شامل پوست نازک و شکننده با وریده های مشخص، کبود شدگی سریع، التیام نامناسب زخم، تشکیل نامناسب اسکار، بوجود آمدن مکرر فتق واکستانسیون زیاد مفاصل می باشد. به علت شکننده بودن عروق کوچک، بخیه جراحی مشکل می باشد.

سندرم مارفان

به علت عدم توانایی بافت نرم در نگهداری بخیه، ترمیم دیسکسیون آئورت مشکل می باشد. علی رغم آنکه ممکن است قابلیت کشش پوست زیاد باشد، اما بهبود زخم با تاخیر صورت نمی گیرد.

استوژنز ایمپرکتا

به علت جهش در کلاژن نوع I می باشد. این بیماران دارای پوستی نازک و افزایش احتمال کبود شدگی هستند. تشکیل اسکار به صورت طبیعی رخ می دهد و پوست آنها فاقد خاصیت افزایش کشش می باشد.

اپیدرمولیز تاولی

با افزایش تشکیل تاول و زخم شدن مشخص می شود. به علت اختلال در تغذیه (زخم های دهانی و انسداد مری) در این بیماران، درمان زخم هایی که بهبود نمی یابند مورد بحث است

آکرودرماتیت انتروپاتیکا

به علت اختلال در جذب روی می باشد. کمبود روی به علت مهار پرولیفراسیون سلولی سبب اختلال در تشکیل بافت گرانولاسیون و اختلال در بهبود زخم می شود. مصرف مکمل روی از طریق خوراکی به میزان 100-400 mg در روز سبب بهبود اختلال ترمیم زخم می شود.

طبقه بندی زخم ها

زخم ها به دو گروه حاد و مزمن طبقه بندی می شوند. زخم حاد با سیر مشخص و زمان قابل پیش بینی بهبود می یابد. به زخم جراحی که تمیز است و به وسیله بخیه بسته می شود ترمیم اولیه گفته می شود. گاهی به علت آلودگی میکروبی یا کمبود بافت، زخم بازگذاشته می شود تا با تشکیل بافت گرانولاسیون بهبود یافته و بسته شود به این روش ترمیم ثانویه گفته می شود.

بسته شدن تاخیری زخم یا بهبود به روش ترمیم ثانویه از ترکیب دو روش فوق حاصل می شود از بازگذاشتن زخم تا چند روز و سپس بستن زخم و بخیه زدن آن.

سوء تغذیه، عفونت و یا ترومای شدید سبب تاخیر در التیام زخم می شوند. اختلال در التیام زخم با کاهش قدرت مکانیکی در مقایسه با زخمی که به طور طبیعی بهبود یافته است، مشخص می شود. بیمارانی که نقص سیستم ایمنی دارند (مثل دیابت، مصرف مزمن استروئید یا آسیب بافت به وسیله رادیو تراپی) بیشتر مستعد اختلال در التیام زخم هستند.

عوامل موثر بر بهبود زخم

سن

عوارض زخم جراحی مثل از هم گسیختگی و فتق در بیماران مسن شایع تر است که علت آن شیوع بیشتر بیماریهای قلبی عروقی، متابولیک (دیابت، سوء تغذیه و کمبود ویتامین)، بدخیمی و استفاده گسترده از داروهایی است که سبب اختلال در ترمیم زخم می شوند. اگرچه به نظر نمی رسد سنتنز کلاژن در زخم دچار اختلال شود، اما تجمع پروتئین های غیر کلاژنی با افزایش سن کاهش می یابد و سبب اختلال در انسجام مکانیکی اسکار می شوند.

هیپوکسی، آنمی، کاهش پرفیوژن

افزایش فشار اکسیژن زیر جلدی از طریق افزایش کسر اکسیژن دمی در طول عمل جراحی و مدت کوتاهی پس از آن سبب افزایش رسوب کلاژن و کاهش میزان عفونت زخم بعد از جراحی الکتیو می شود.

نکته : کم خونی نرمولمیک خفیف تا متوسط بر اکسیژناسیون زخم و سنتز کلاژن تاثیر نمی گذارد. مگر آنکه همتوکریت کمتر از ۱۵٪ باشد.

استروئید و داروهای شیمی درمانی

مصرف مزمن دوزهای بالای کورتون ، سنتز کلاژن و قدرت زخم را کاهش می دهد. اگر استروئید ۳ تا ۴ روز بعد از جراحی مصرف شود ، نسبت به مصرف آن بلافاصله بعد از عمل جراحی اثر کمتری بر بهبود زخم می گذارد . علاوه بر اثر استروئید بر ساخت کلاژن ، تشکیل اپی تلیوم و جمع شدن زخم را نیز دچار اختلال کرده و عفونت زخم را افزایش می دهد که این عوارض به زمان شروع استروئید بستگی ندارد. استروئید ترمیم زخم پوست را به تاخیر می اندازد که می توان با مصرف ویتامین A تشکیل اپی تلیوم را تحریک کرد .

نکته : تمام داروهای شیمی درمانی اثر سوئی بر بهبود زخم دارند که بابه تاخیر انداختن مصرف آنها تا ۲ هفته بعد از جراحی می توان این تاثیر سوء را به حداقل رساند.

اختلالات متابولیک

دیابت شناخته شده ترین اختلالی است که سبب افزایش احتمال عفونت زخم و تاخیر در بهبود آن می شود . چاقی ، مقاومت به انسولین ، هیپرگلیسمی و نارسایی کلیه از عواملی هستند که سبب اختلال در بهبود زخم در بیماران دیابتی می شوند. در بیماران دیابت تیپ I تجمع کلاژن در زخم کاهش می یابد که وابسته به کنترل قند نمی باشد، در حالی که در دیابت تیپ II این اختلال دیده نمی شود. کنترل مناسب قند خون قبل از عمل جراحی سبب بهبود پروگنوز زخم می شود . افزایش میزان اکسیژن دمی ، استفاده محتاطانه از آنتی بیوتیک و اصلاح سایر اختلالات متابولیک همراه سبب افزایش احتمال بهبود زخم می شود.

اورمی نیز سبب اختلال در بهبود زخم می شود که با اصلاح آن به وسیله دیالیز و بهبود وضعیت تغذیه بیمار می توان احتمال بهبود زخم را افزایش داد.

تغذیه

سوء تغذیه سبب افزایش احتمال عوارض و عدم بهبود زخم می شود. کمبود آرژنین ، ویتامین C و A و روی سبب اختلال در ترمیم زخم می شود . کمبود ویتامین C سبب افزایش احتمال عفونت زخم و افزایش شدت عفونت نیز می شود. دوز معمول کمبود ویتامین C در رژیم غذایی 60 mg در روز می باشد که نیاز بیماران بدحال و سوختگی شدید (شکل ۵) به 2 gr نیز می رسد .

در افرادی که تحت شیمی درمانی قرار دارند و یا استروئید مصرف می کنند ویتامین A سبب بهبود اثر منفی استروئید بر روی زخم می شود . ویتامین A سبب بهبود ترمیم زخم در شرایطی مثل دیابت، ایجاد تومور، مصرف سیکلوسپورین و رادیاسیون می شود و در آسیب شدید یا استرس ، نیاز به ویتامین A افزایش می یابد که در این شرایط دوز مکمل ویتامین A ۱۰۰۰۰۰-۲۵۰۰۰ واحد در روز توصیه می شود.

نکته : مصرف آرژنین سبب افزایش تجمع کلاژن و پروتئین می شود. اما بر روی تشکیل اپیتلیوم پوست آسیب دیده بی اثر است.

نکته : افزایش احتمال عفونت در اثر کمبود ویتامین C به علت اختلال عملکرد نوتروفیل ، کاهش فعالیت کمپلمان و کاهش احاطه شدن باکتری ها به دلیل رسوب ناکافی کلاژن می باشد.

عفونت

پاسخ میزبان به عفونت به صورت سلولیت ، ترشح غیر طبیعی ، تاخیر در بهبودی، تغییر درد، بافت گرانولاسیون غیر طبیعی ، بو و رنگ غیر طبیعی می باشد (شکل ۶)

نکته : ویتامین A سبب افزایش پاسخ التهابی در ترمیم زخم ، سرازیری ماکروفاژها و تشدید فعالیت آنها و افزایش سنتز کلاژن ، می شود.

نکته : کمبود روی سبب کاهش تکثیر فیبروبلاست ها ، کاهش سنتز کلاژن ، اختلال در استحکام زخم و تاخیر در تشکیل اپی تلیوم می شود.

زخم های مزمن

زخم های مزمن فرایند معمول ترمیم را طی نکرده و تمامیت آناتومیک و عملکردی خود را به دست نمی آورند. اکثر زخم هایی را که ظرف ۳ ماه التیام نمی یابند مزمن در نظر می گیرند.

زخم های پوستی در بافت های صدمه دیده یا فاقد عروق نیز ماهیت مزمن داشته و جزء اصلی زخم های مزمن محسوب می گردند. ترومای مکرر ، خونرسانی یا اکسیژناسیون ضعیف و یا التهاب بیش از حد زمینه را برای ایجاد زخم مزمن فراهم می آورند.

نکته : ممکن است تغییر بد خیمی در زخم های مزمن اتفاق افتد (زخم مارچولین). در موارد مشکوک به بدخیمی ، بیوپسی از لبه های زخم ضرورت دارد . کانسر برخاسته از زخم های مزمن از نوع کارسینوم سنگفرشی و بازال می باشد .

زخم های ایسکمیک شریانی (شکل ۱)

این زخم ها به هنگام تظاهر دردناک بوده و معمولاً با علایم دیگر بیماری عروق محیطی نظیر لنگش متناوب، درد حین استراحت شبانه ، خشکی و تغییر رنگ پوست ، ریزش مو ، پوسته ریزی و رنگ پریدگی همراهند. زخم های شریانی عموماً در انتهایی ترین قسمتهای اندام مانند شکاف های بین انگشتی ظاهر می گردند . در معاینه ممکن است نبض ها کاهش یافته یا از بین رفته باشند. شاخص مچ پا به بازو کاهش یافته و تشکیل بافت گرانولاسیون مختل می گردد . زخم شریانی معمولاً کم عمق و دارای لبه های صاف بوده ، قاعده رنگ پریده ای دارد. درمان این زخم ها در دو راستای واسکولاریزه کردن مجدد و مراقبت از زخم صورت می گیرد.

نکته : از جوراب های فشاری برای افراد بستری در ICU که مشکلات عروقی شدیدی دارند نباید استفاده شود، بلکه به صورت مکرر باید وضعیت قرارگیری آنها را عوض کرد.

زخم های استاز وریدی (شکل ۲)

پاتوفیزیولوژی زخم های وریدی ناشناخته مانده است. هیپرتانسیون وریدی و تخریب مویرگ ها منجر به نشت هموگلوبین از رگ ها شده و موجب تحریک ، خارش و تخریب پوست می شود. پیگمانتاسیون قهوه ای پوست همراه با تحلیل چربی زیر جلدی، تغییراتی موسوم به لیپودرماتواسکلروز را به وجود می آورد.

نکته : نارسایی در اپی تلیالیزاسیون مجدد علیرغم وجود بافت گرانولاسیون کافی ، تصویر بالینی یک زخم وریدی است.

استاز وریدی نتیجه بی کفایتی سیستم های وریدی سطحی یا عمقی است. زخم های وریدی مزمن معمولاً در اثر بی کفایتی سیستم وریدی عمقی به وجود آمده و معمولاً فاقد درد هستند. موقعیت مشخص ، سابقه نارسایی وریدی و سایر تغییرات پوستی برای زخم های وریدی تشخیصی است. این زخم ها معمولاً کم عمق بوده ، حاشیه نامنظم و پوست پیگمانته در اطراف دارند.

نکته : زخم های استاز وریدی در محل پرفوراتورهای نارسا از جمله پرفوراتور cockett در بالای قوزک داخلی به وجود می آیند.

درمان فشارنده اساس درمان زخم های وریدی را تشکیل می دهد. استفاده از بانداز غیرالاستیک آغشته به اکسید روی متداول ترین روش می باشد. مراقبت زخم در این بیماران بر حفظ محیط مرطوب زخم توسط هیدروکلئیدها استوار است. درمانهای پیشرفته تر عبارتند از مواد وازاکتیو و عوامل رشد و استفاده از جایگزین های پوست، اکثر زخم های وریدی با مداومت در درمان هیپرتانسیون وریدی التیام می یابند ولی متأسفانه عود شایع است.

زخم های دیابتی (شکل ۳)

۱۵-۱۰٪ بیماران دیابتی در معرض ابتلا به زخم هستند ۷۰-۶۰٪ زخم های دیابتی ناشی از نوروپاتی (حسی و حرکتی) ، ۲۰-۱۵٪ نتیجه ایسکمی و ۲۰-۱۵٪ نیز حاصل ترکیبی از آن دو می باشند

دفورمیتی پا را نیز باید به این لیست اضافه کرد. همچنین اختلال شدید در شرایین کوچک و بزرگ بیماران دیابتی وجود دارد.

احتمال ترمیم زخم های دیابتی ضعیف است و درمان آنها شامل تمهیدات موضعی و سیستمیک می باشد. دستیابی به سطح طبیعی قند خون اهمیت فراوانی دارد. اکثر زخم های دیابتی عفونی بوده و ریشه کنی منبع عفونت مهمتر از موفقیت در التیام زخم است. بایستی احتمال وجود استئومیلیت را در نظر گرفت و آنتی بیوتیک مناسب تجویز نمود. دبریدمان وسیع کلیه نسوج نکروزه و عفونی نیز پایه دیگر درمان است. با استفاده از کفشهای ویژه ارتوپدی می توان فشار را از روی ناحیه زخمی برداشت کاربرد موضعی PDGF و GMCSF و همچنین استفاده از آلوگرافت، موفقیت عمده ای در ترمیم این زخم ها به ارمغان آورده است. پیشگیری و حفاظت از پا مهم ترین اقدام درمانی است.

زخم بستر یا زخم فشاری (شکل ۴)

میزان بروز زخم فشاری در سرویس مراقبتهای کوتاه مدت و بلند مدت به ترتیب ۹-۲/۷ درصد و ۲۳-۲/۴ درصد می باشد. زخم فشاری، ناحیه ای از نکروز است که در اثر فشرده شدن بافت نرم بین یک برجستگی استخوانی و سطح خارجی به وجود می آید. تشکیل زخم در حضور سایش، نیروهای برشی و رطوبت تسریع می گردد. سایر عوامل دخیل در پاتوژنز زخم فشاری عبارتند از بی تحرکی، تغییر وضعیت هوشیاری، تغییر شرایط تغذیه و بیماری مزمن. مراحل تشکیل زخم فشار عبارتند از مرحله I: وجود اریتم روی پوست سالم که با فشار محو نمی شود؛ مرحله II: تخریب نیمه ضخامت پوست شامل اپیدرم و یا درم؛ مرحله III: تخریب تمام ضخامت پوست اما نه فراتر فاشیا و مرحله IV: تخریب تمام ضخامت پوست با درگیری گسترده عضله و استخوان. مراقبت از زخم مشتمل است بر دبریدمان نسج نکروزه، حفظ رطوبت مطلوب زخم، رفع فشار و اصلاح تغذیه، متابولیسم و گردش خون بیمار. بستر زخم را باید طوری با پانسمان مرطوب نگه داشت که جذب ترشحات موجب کنده شدن زخم نگردد. ترمیم جراحی معمولاً شامل چرخش فلاپ می باشد. متأسفانه احتمال عود زیاد است. (۶)



شکل ۱- زخم های ایسکمیک شریانی شکل ۲- زخم های استاز وریدی



شکل ۳- زخم پای دیابتی



شکل ۵- زخم سوختگی



شکل ۴- زخم بستر یا زخم فشاری



شکل ۶- زخم های عفونی

ذرات نانو به ذراتی اطلاق می شود که قطر یا میانگین ابعاد آنها در حدود ۶-۱۰ متر باشد. این ذرات به لحاظ ابعاد کوچک خود خواص فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی، الکترونیکی و مغناطیسی منحصر به فردی دارند، آزادانه وارد سلول شده و می توانند در روند طبیعی آن تداخل کنند (۷). نانو ذرات نقره به دلیل اثرات شگرف ضد میکروبی و مصرف روز افزون در صنایع مختلف نظیر صنایع بهداشتی و آرایشی، کاتتر، اسپری های ضد عفونی کننده، شوینده ها، خمیر دندان ها و ... کاربرد دارد. (۸). اثرات باکتریوسیدی نقره قرنهایست که برای بشر شناخته شده است. سربازان در جنگ ها از سکه های نقره ای برای بستن زخم ها به منظور کنترل عفونت استفاده می نمودند (۹). نانو نقره شامل سوسپانسیون آب خالص دیونیزه با نقره است که در آن حدود ۸۰٪ نقره، شکل ذرات نانو نقره فلزی و مابقی نقره یونیزه (کلوئیدی) دارند که خاصیت آنتی باکتریال (ضد باکتری)، آنتی فونگاس (ضد قارچ) و آنتی ویروس دارند (۱۰). بیش از ۶۰۰ میکروب شناخته شده که حساس به نانو نقره هستند که ویروس HIV هم جزئی از آنهاست (۱۱ و ۱۲).

نقره عنصر سفید و براق فلزی می باشد و در موقعیت چهل و هفتم جدول تناوبی قرار گرفته و با نماد **Ag** که از کلمه **Argentum** می آید، نشان داده می شود. نقره خالص دارای بالاترین هدایت الکتریکی و گرمایی در بین تمامی عناصر می باشد. همراه با طلا، که از عناصر کمیاب و گرانبها هستند نقره به طور گسترده ای در تاریخ بشر برای هزاران سال به کار برده شده است. نقره قادر است ۶۰۰ نوع بیماری را که ناشی از میکرو ارگانیسم هاست از بین ببرد. از جمله کاربردهای نقره می توان به جواهرات، ابزار آشپزخانه، پول، آلیاژهای دندانی، عکاسی و غیره اشاره کرد. در میان کاربردهای بسیار زیاد نقره، استفاده از خاصیت ضد عفونی کنندگی آن برای مقاصد بهداشتی و پزشکی قابل توجه و اهمیت می باشد اگرچه تا به حال مکانیزم عمل آن به طور کامل درک نشده است. امروزه نقره فلزی به شکل ذراتی با سایز کمتر از ۱۰۰ نانومتر به وجود آمده است که آن ها را نانو ذرات نقره یا نانو نقره می نامند. این ذرات خواص غیر معمول فیزیکوشیمیایی و فعالیت های بیولوژیکی از خود نشان می دهند. با انجام فعالیت های تحقیقاتی وسیع، به کار بردن نانو نقره به ویژه در حوزه سلامتی به صورت گسترده ای گسترش یافته است. با توجه به گزارش های تحقیقاتی، نانو نقره به عنوان یکی از مقوله های تولید که به سرعت در بازار و صنعت نانوتکنولوژی رشد می کند نمایان شده است. هنوز فعالیت آنتی باکتریالی قوی جهت گیری اصلی برای گسترش محصولات نانونقره می باشد.

گستره وسیعی از این محصولات در بازار وجود دارد به عنوان مثال در زمینه پزشکی پوشش روی زخم، ابزارهای جراحی و پروتزهای استخوان با نانونقره پوشش داده می شوند. در زندگی روزمره مشتری ها ممکن است از اسپری های حاوی نانونقره، شوینده های لباس، خالص سازی آب و رنگ دیوار حاوی نانونقره استفاده کنند. نانو نقره همچنین در نساجی برای تهیه لباس، لباس های زیر و جوراب وارد شده است. ماشین های لباس شویی ای وجود دارند که با تکنولوژی نانونقره کار می کنند. تخمین زده شده است که در بخش پزشکی و حفظ سلامت، از میان تمام مواد نانویی، کاربرد نانونقره در بالاترین درجه تجاری شدن قرار دارد.

داستان خاصیت ضد میکروبی نقره داستانی معاصر نیست بلکه این خاصیت از دیرباز شناخته شده بوده و بکار می رفته است برای مثال در جنگها جهت ترمیم زخمهای سربازان روی زخم سکه ای از جنس نقره قرار می دادند و سپس محل زخم را می بستند و یا برای نگهداری مواد غذایی از ظروف نقره ای استفاده می شده است، و علت شیوع نیافتن بیماریهای مسری در مناطق اعیان نشین را به ظروف نقره نسبت میدهند.

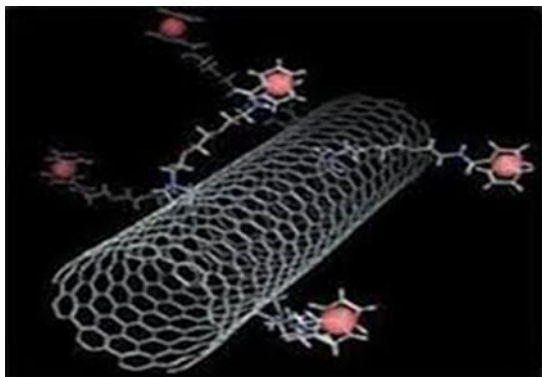
دانشمندان مکانیسم های متفاوتی را برای تبیین اثرگذاری نقره بر میکروبها یافته اند. به دلیل همین تعدد مکانیسم ها است که میکروب ها نمیتوانند نسبت به نقره سازگار شوند و یا مقاومت پیدا کنند.

امروزه به مدد فناوری نانو ساخت ذرات نقره در ابعاد نانو میسر گشته است . ذرات نانو نقره به ما این امکان را میدهند که با کمترین غلظت خاصیت ضد میکروبی بسیار قوی را از فلز نقره شاهد باشیم. برای مصرف این دارو به صورت خوراکی بهتر است از محلولی با غلظت بالای 20ppm استفاده شود تا تأثیر بیشتری در بدن داشته باشد. از نانو سیلور به عنوان دارومی توان در درمان بیماریهای پوستی، جوش و ... ، انواع جراحات و سوختگی ها، بیماریهای باکتریایی و قارچی، بیماریهای گوارشی، بیماریهای جنسی (مثل سوزاک) و ... استفاده کرد.

مطالعات در مورد نانوذرات، محدود به چند مطالعه انگشت شمار می باشد (۱۳و۱۴). اغلب مطالعات در زمینه بررسی اثرات استثنای نانو ذرات نقره (۱۵و۱۶) و یا جذب آن از سطح پوست (۱۷) و یا اثرات سیتوتوکسیک (۱۸و۱۹) می باشد و کمتر استفاده خوراکی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۲۰). مطالعه ای با عنوان بررسی تغییرات برخی پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیکی در خون موش های صحرایی نژاد ویستار به موازات مصرف خوراکی نانو ذرات نقره انجام شده و نتایج کلی حاکی از آن بود که مصرف خوراکی این ذرات به خصوص در دوزهای بالا و در بلند مدت نه تنها می تواند آسیب بافت کبدی بلکه کاهش تعداد گلبولهای سفید و سطح ایمنی حیوان را به دنبال داشته باشد (۲۱).

مطالعه ای با عنوان بررسی اثر آنتی میکروبیال نانوذرات نقره انجام شده و نتایج کلی حاکی از آن بوده که نانو ذرات نقره می تواند مانع از رشد ویروس و میکروارگانیسم ها شده و به شیوه های گوناگون در کنترل سیستم ضد باکتریایی فعالیت می کند (۲۲و۳۲)

نانو سیلور یا همان نانو ذرات نقره ، یکی از پر کاربرد ترین ذرات در حوزه نانو پس از نانو لوله های کربن (شکل ۷)



است، که هر روزه بر کاربرد آن در دنیای نانو افزوده می شود

شکل ۷-نانولوله های کربنی

نانوذرات نقره عمدتاً، به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه‌ای که از خود نشان می‌دهند در مصارف الکترونیکی، نوری، دارویی و بهداشتی و کاتالیتیکی کاربرد فراوان دارند. (۳۰ و ۳۱)

یکی از دلایل کاربرد گسترده این ذرات ، به دلیل خاصیت آنتی باکتریال این ذرات است (۲۹) و در واقع نانوذرات نقره برای عوامل بیماری‌زا یک سم تلقی می‌شوند و برای بدن انسان، غذاها و بافت‌ها بی‌ضررند. این در حالیست که نقره به خودی خود خاصیت کمتری دارد. این خاصیت دوگانه ذرات نانو در مقایسه با ذرات ماکروی نقره به دلیل اثر افزایش سطح در نتیجه افزایش واکنش پذیری ماده و پیروی ماده از فیزیک و شیمی کوانتم در حالت نانو است. نقره در ابعاد بزرگتر، فلزی با خاصیت واکنش دهی کم میباشد، ولی زمانی که به ابعاد کوچک در حد نانومتر تبدیل میشود خاصیت میکروب کشی آن بیش از ۹۹ درصد افزایش می یابد، به حدی که می توان از آن جهت بهبود جراحات و عفونتها استفاده کرد. نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولید مثل میکروارگانیسم اثر می گذارد. تاکنون بیش از ۶۰۰ نوع باکتری شناخته شده را از بین برده است.

هر چند این فناوری به تازگی مورد توجه زیادی قرار گرفته و رونق بسیاری پیدا کرده ، اما از آن در طب قدیم استفاده می شده بدون آنکه دلیل تاثیر آن شناخته شود و حتی در جنگ برای کنترل عفونت زخم سربازان از سکه های نقره استفاده می شده است.

دانشمندان مکانیسم های متفاوتی را برای تبیین اثرگذاری نقره بر میکروبها یافته اند. به دلیل همین تعدد مکانیسم ها است که میکروبها نمیتوانند نسبت به نقره سازگار شوند و یا مقاومت پیدا کنند. امروزه به مدد فناوری نانو ساخت ذرات نقره در ابعاد نانو میسر گشته است ذرات نانو نقره به ما این امکان را میدهند که با کمترین غلظت خاصیت

ضد میکروبی بسیار قوی را از فلز نقره شاهد باشیم. در میان مکانیسم های متعددی که از فلز نانو نقره شناخته شده است ، دو مکانیسم بصورت بارز در نظر گرفته می شود که به شرح زیر است .

دو مکانیسم عمده نانو نقره ها عبارتند از :

۱ -مکانیسم کاتالیتی: تولید اکسیژن فعال توسط نقره، این مکانیسم بیشتر درمورد کامپوزیت های نانو نقره ای صدق میکند که روی پایه های نیمه هادی مانند TiO_2 یا SiO_2 قرار گرفته می شود. در این وضعیت ذره مانند یک پیل الکتروشیمیایی عمل میکند و با اکسید کردن اتم اکسیژن، یون اکسیژن و با هیدرولیز کردن آب، یون OH^- را تولید می کند که هر دو از بنیان های فعال و از قوی ترین عاملین ضد میکروبی نیز می باشند.

۲ -مکانیسم یونی: دگرگون ساختن میکروارگانیسم به وسیله تبدیل پیوند های SH — به Sag —.

دراین مکانیسم ذرات نانونقره فلزی به مرور زمان یونهای نقره از خود ساطع می کنند. این یونها طی واکنش جانشینی، باندهای SH^- را در جداره میکروارگانیسم به باندهای Sag^- تبدیل می کنند، که نتیجه ای واکنش تلف شدن میکروارگانیسم است .

خصوصیات نانو سیلور:

۱ -تاثیر بسیار زیاد

۲ -تاثیر سریع

۳ -غیر سمی

۴ -غیر محرک برای بدن

۵ -غیر حساسیت زا

۶ -قابلیت تحمل شرایط مختلف (پایداری زیاد)

۷ -آب دوست بودن

۸ -سازگاری با محیط زیست

۹ -مقاوم در برابر حرارت

۱۰ -عدم ایجاد و افزایش مقاومت و سازگاری در میکروارگانیسم

از دیگر قابلیت های نانو سیلور، اضافه شدن به الیاف، پلیمر، سرامیک، سنگ، رنگ و... ، بدون تغییر دادن خواص ماده

است

موارد استفاده نانو سیلور ها:

- ۱- تجهیزات بهداشتی (مسواک و برسهای بهداشتی حمام ، تیغ جراحی و....)
- ۲- ظروف پلاستیکی (غذایی ، دارویی ، آرایشی)
- ۳- لوازم خانگی (یخچال، جارو برقی، ماشین های لباس شوئی و ظرف شویی، سیستم تهویه و تصفیه هوا و رطوبت (زا)

تاکنون حتما شاهد تبلیغات و یا استفاده ماشین های لباس شوئی با بهره گیری از تکنولوژی نانو سیلور بوده اید. در این تجهیزات برای گند زدائی و ضد عفونی کردن لباس ها و ماشین لباس شوئی از نانو سیلور استفاده می شود.

۴- مواد بسته بندی برای تازه و بهداشتی نگه داشتن مواد غذایی

۵- بدنه وسایلی که انسان مداوم با آن تماس دارد (گوشی موبایل ، کیبورد و ...) (۲۷ و ۲۸)

بیشتر نانوذرات به صورت پلیمری استفاده می شود. این پلیمرها باید در محیط سرد و خشک و به دور از آفتاب نگهداری شوند که تحت این شرایط تا دو سال قابل نگهداری هستند.

ذرات نانو سیلور را می توان به صورت پودر درآورد و در مواد و وسایل مختلف استفاده کرد (مسواک ، خمیر دندان) ، که در آن صورت به محض تماس ماده با آب ، نقره فعال شده و خاصیت آنتی باکتریال پیدا می کند.

طبق اولین بررسی هایی که تاکنون روی نانوذرات فلزی انجام شده، برهم کنش نانوذرات نقره با ابعاد یک تا ۱۰ نانومتر با ویروس HIV-۱ و چسبیدن این ذرات به آن مانع از اتصال این ویروس به سلول میزبان می شود. بدین

ترتیب دانشمندان امیدوار شده اند که شاید بتوان این ویروس را به طور کامل از بین برد. (۲۵ و ۲۶)

نحوه سنتز نانوذرات نقره: برای سنتز نانوذرات، روش های شیمیایی متفاوتی عرضه شده اند، از جمله روش میکروامولسیون موج (۳۳) ، سنتز با کمک امواج ریز میکرو ویو (۳۴) ، روش های احیاء شیمیایی (۳۵)، روش استفاده از الگو (Template) (۳۶)، احیاء الکتروشیمیایی (۳۷) ، احیاء با روش پرتوتابی (۳۸) ، احیاء شیمیایی در محلول آبی (۳۹) ، احیاء شیمیایی بدون محلول آبی (۴۰)، احیاء القاء شده با نور یا احیاء فتوکاتالیتیک (۴۱) و با کمک امواج اولتراسونیک (۴۲) روش های بیوشیمیایی (۴۳)

فصل دوم :

بررسی متن و مروری بر مقالات

انسان از بدو خلقت همیشه در معرض حوادثی منجر به زخم بوده است. با توجه به اهمیت زخم در گذشته و حال درمان های مختلفی من جمله گیاهان دارویی و جراحی انجام می شده است. استفاده سنتی از عسل در بهبود زخم به طور وسیعی در طب کشورهای چون یونان، مصر و هندوستان رایج می باشد و در سالهای اخیر نیز عسل به عنوان یک عامل درمانی معرفی شده است. اثرات باکتریوسیدی نقره قرنهایست که برای بشر شناخته شده است. سربازان در جنگ ها از سکه های نقره ای برای بستن زخم ها به منظور کنترل عفونت استفاده می نمودند. روش های گوناگون درمان زخم از قدیمی ترین آن یعنی استفاده از صمغ درختان و عسل توسط مصریان باستان و یا عصاره برگ چای توسط چینی ها تا استفاده امروزی از محلول های ضد عفونی همگی در جهت ایجاد زمینه ای مساعد برای سرعت بخشیدن به روند التیام بافت صدمه دیده می باشد. در گذشته از گیاهان دارویی بسیاری استفاده می شده است که امروزه نیز پژوهش های زیادی انجام شده یا در حال انجام است. مثلاً مطالعه پروین زارعیان و شهلا ظهیری که اثر پماد موضعی گزانگبین بر روند ترمیم زخم پوستی در ۲۴ خرگوش نر نژاد هلندی بررسی کردند که نشان دهنده کاهش حضور سلول های التهابی چون نوتروفیل در زخم بود. مطالعه سیمین ریاحی و حسین ایمانی بررسی میزان اثر بخشی مصرف موضعی عسل در ترمیم زخم پوست با ضخامت کامل در موش صحرایی نر می باشد که نشان دهنده روند تسریع بهبودی زخم می باشد. دکتر محمد الله توکلی و دکتر رضا وزیری نژاد اثر عصاره هیدروالکلی کلپوره بر ترمیم زخم پوستی موش صحرایی را بررسی کردند که نشان دهنده اختلاف معنی داری در درصد بهبودی زخم دیده می شود. مرتضی جراحی در سال ۸۶ بررسی اثر موضعی عصاره روغنی بابونه (*chamomilla L. Matricaria*) بر ترمیم زخم جلدی نوع برشی در موش صحرایی نشان دهنده روند تسریع بهبودی زخم می باشد. ۱. مسعود اجرلو اثر موضعی ژل گیاه صبر زرد (*Aloe barbadensis Miller*) بر ترمیم زخم برشی پوست صحرایی را بررسی کردند که تسریع بهبودی زخم را نشان داد. امروزه تاثیر یکسری دارو ها را در روند ترمیم زخم نیز بررسی کرده اند. دکتر آناهیتا رضائی اثر استفاده ی موضعی استروژن تسریع روند ترمیم زخم در موش های صحرایی دیابتی را بررسی کردند. یافته ها: در بررسی ماکروسکوپی، زخم های گروه دیابتی در مقایسه با گروه سالم ترمیم دیرتری داشته و التیام زخم در زیرگروه آزمون در موش های سالم و دیابتی از روز ۷ به بعد تغییر چشمگیری داشته

است ($p < 0.05$). در بررسی میکروسکوپی گروه سالم، شاخص تشکیل بافت جوانه‌ای اختلاف نداشته ولی افزایش رگ زایی و تشکیل اپیتلیوم جدید در زیرگروه آزمون مشهود بود: زیرگروه آزمون پیشرفت محسوسی نسبت به زیرگروه شاهد نشان داد. نتیجه گیری: در گروه دیابتی نیز در تمام موارد براساس یافته های به دست آمده در این پژوهش، استروژن می‌تواند موجب تسریع در ترمیم ناقص زخم های دیابتی شود. محمد خاکساری اثر اسید اسکوربیک خوراکی بر شاخص های هیستولوژیکی ترمیم زخم موش صحرایی با دیابت تجربی مزمن بررسی کردند. نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که مصرف اسید اسکوربیک خوراکی در حیوان با دیابت مزمن پس از القاء دیابت و هم چنین به صورت پروفیلاکسی و ترکیبی ترمیم زخم را مختل می‌کند. دکتر دلگشایی و همکاران بررسی اثر اسید رتینوئیک موضعی بر ترمیم زخم در موش دیابتی را بررسی کردند. نتیجه نهایی: با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که درمان موضعی با تره تینوئین در زخم های دیابتیک می‌تواند موجب تسریع در ترمیم زخم شود. بررسی اثر کورتیکو استروئید بر روی ترمیم اناستوموز تراکتال در موش صحرایی (۲۴)، و ارزیابی و مقایسه تاثیرات تجویز موضعی ژل صبرزد، کرم هورمون تیروئید و کرم سیلور سولفادیازین بر ترمیم زخم باز پوستی در موش های صحرایی ویستار و تاثیر کافتیک اسید و لیزر پژوهش های جدید دیگری هستند که در زمینه ترمیم زخم انجام شده اند. مطالعه در مورد اثر نانو ذرات نقره در روند ترمیم زخم به چند مطالعه محدود ختم می‌شود ولی در مورد اثرات انتی باکتریال چندین مطالعه انجام شده است. مثلاً مطالعه Cho KH, Park JE در سال ۲۰۰۴ اثر انتی باکتریال نانوپار تیکل های نقره را بررسی می‌نماید. در گذشته از نیترات نقره برای ضد عفونی کردن زخم ها در جنگ استفاده می‌شده است.

پودر نقره به نظر هیپوکراتیس (Hippocrates)، پدر علم پزشکی نوین، دارای اثرات شفادهنگی و ضد مریضی بوده و در لیست درمانی برای زخم ها قرار داشت. ترکیبات نقره ای به مقدار زیادی در کاربردهای پزشکی داخل شده اند. ترکیبات نقره سلاح اصلی در مقابل زخم های عفونی در جنگ جهانی اول بود تا اینکه آنتی بیوتیک ها تولید شدند. در سال ۱۸۸۴ پزشکان متخصص آلمانی محلول چشمی یک درصد نیترات نقره را برای جلوگیری از Gonococcal Ophthalmia Neonatorum معرفی نمودند که گفته می‌شود اولین مقاله علمی مستند برای کاربردهای پزشکی نقره می‌باشد. به علاوه استفاده از کرم های سولفادیازین نقره برای مصارف ضد باکتریایی است که به طور گسترده ای برای زخم ها و سوختگی های شدید استفاده می‌شود

کاربرد نانوتکنولوژی در علوم مختلف بسیار دیده می شود. استفاده از نانوذرات نقره، یکی از پرکاربردترین موارد استفاده از نانوتکنولوژی دارو رسانی (Drug delivery) می باشد. در فناوری نانو نقره، موادی متشکل از یون های نقره به صورت کلوئیدی در محلولی به شکل سوسپانسیون قرار دارند. یون های نقره به دلیل اندازه کوچک، سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و تاثیر بیشتری بر محیط می گذارند. این نانوذرات دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می باشند. این در حالی است که نقره، به خودی خود، دارای خاصیت بسیار کمتر و یا فاقد آن است. این خاصیت دوگانه ذرات نانو، در مقایسه با ذرات ماکروی نقره به دلیل اثر افزایش سطح در نتیجه افزایش واکنش پذیری ماده و پیروی ماده از فیزیک و شیمی کوانتوم در حالت نانو است (۴۴،۴۵). به این معنا که در مقیاس نانو، رفتار سطوح بر رفتار توده ای چیره می گردد و قوانین فیزیک کوانتومی وارد صحنه شده و ویژگی های ذاتی ماده مانند دمای ذوب، رفتار مغناطیسی و رنگ ماده تغییر می کند. واژه سطح، معمولاً برای مشخص کردن ناحیه مرزی یک فاز مایع، جامد و گاز به کار می رود. عمق لایه سطحی، برابر با حدود دو فاصله اتمی است و پایین تر از این عمق، مکان و انرژی اتم ها به طور اندکی تحت تاثیر قرار می گیرند (۴۶،۴۷). از نانو سیلور، به عنوان دارو می توان در درمان بیماری های پوستی، آکنه، انواع جراحات و سوختگی ها، بیمار یهای باکتریایی و قارچی، بیمار یهای گوارشی، بیمار یهای جنسی و ایدز استفاده نمود. نانو نقره ماده ای با سمیت بالا است که با تولید گونه های آزاد اکسیژن همراه است. بسیاری از مطالعات، وابسته به دوز بودن آن را تایید کرده اند. (in vitro). مطالعات آزمایشگاهی در حال حاضر، هیچ همبستگی مستقیمی بین مارکرهای بیولوژیک در موجودات زنده و سطح پوست آن ها و تاثیر نانو ذرات (in vivo) داخل بدن. با توجه به کاربرد بسیار زیاد نانو ذرات مختلف بر آن ها وجود ندارد (۴۵). فاطمه ابوطالبی و سمیرا کرم سیچانی در سال ۹۱ ترکیب نانوذرات نقره با عصاره کدوخلوایی را بر ترمیم سوختگی در موش سوری نژاد البینو در ۸ گروه ۸ تایی بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که ترکیب نانوذرات نقره با عصاره کدوخلوایی اثر سینرژیک بر ترمیم زخم سوختگی دارد. نقره در نانوتکنولوژی نوین و نقش آن ها در بسته بندی مواد و کاربردهای پزشکی این ذرات در کشور ما، کاربرد این نانو ذره مثل شمشیر دولبه است. از طرفی یون های نقره طی چندین رویداد بیولوژیک مثل اتصال با غشای سلولی و جذب به دیواره سلولی، نفوذ پذیری غشای سلول های زنده را تغییر داده و با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن، آنزیم های سلولی را غیرفعال می کند. این ویژگی ها ممکن است دارای تاثیرات منفی بر سلامتی و محیط باشند و منجر به سمیت بالای نانو

ذرات نقره شوند (۴۵،۴۶). از طرفی، اگر این تاثیر سمی بر بقایای سلول های مرده در زخم های پوستی اعمال شود، در ترمیم سوختگی ها و ضایعات پوستی می تواند موثر واقع شود. در این تحقیق به بررسی مقایسه اثرات نانو سیلور تنها در ترمیم زخم مکانیکی در موش های نر نژاد ویستار پرداخته شده است. با توجه به شباهت ساختاری بدن موش و انسان، ممکن است در صورت وجود اثرات ترمیمی، از نانوذرات مزبور جهت رفع ضایعات پوستی و ترمیم زخم در انسان استفاده نمود و با توجه به اثر آنتی باکتریال بر آن شدیم تا تاثیر نانوذرات نقره را بر روند بهبود زخم بررسی نماییم.

اهداف و فرضیات (OBJECTIVE & HYPOTHESIS):

الف-هدف اصلی طرح (General Objective):

بررسی اثر مصرف خوراکی نانوذرات نقره بر روی ترمیم زخم در موش سفید صحرایی نر

ب-اهداف فرعی (Specific Objectives):

۱. اندازه گیری قطر زخم پس از درمان با نانوذرات نقره با غلظت ۳۰ppm در روز ۱۲
۲. اندازه گیری قطر زخم پس از درمان با نانوذرات نقره با غلظت ۶۰ppm در روز ۱۲
۳. تعیین میزان رگزایی
۴. تعیین سلول های التهابی شامل : نوتروفیل ، ائوزینوفیل و ماست سل
۵. تعیین دانسیته کلاژن
۶. تعیین میزان فیبروبلاست

ج-اهداف کاربردی (Applied Objectives):

نانوذرات نقره می توانند در فرایند ترمیم زخم مورد استفاده قرار گیرند

د-فرضیه ها (Hypothesis) یا سؤال های پژوهش:

قطر زخم پس از درمان با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm در مقایسه با غلظت ۶۰ppm در روز ۱۲ بیشتر است

فصل سوم:

روش اجرا و طراحی تحقیق

مطالعه از نوع تجربی است که در طی نه ماه و در میان ۳ گروه موش صحرایی انجام خواهد شد.

حیوان مورد آزمایش: در این تحقیق از ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 225 ± 25 گرم تهیه شده از انستیتو پاستور ایران استفاده می شود. موش ها در قفس های انفرادی تمیز نگهداری می شدند و به آب و خوراک دسترسی داشته و همگی در یک حیوان خانه که شرایط استاندارد در آن رعایت می شد به سر می بردند. گروه های کنترل و تجربی هر کدام ۱۰ نمونه بودند که در ۳ گروه ۱۰ تایی قرار گرفتند. توزیع آن ها روش تصادفی انجام شد.

روش بیهوشی و جراحی: موش های صحرایی با استفاده از کتامین و زایلازین محصول شرکت مرک آلمان بیهوش شده و سپس موی پوست موضع با ریش تراش برقی تراشیده شد و با محلول بتادین (محصول تولید دارو-ایران) ضد عفونی گردید و زخمی با ضخامت کامل پوست (اپیدرم و درم) به شکل دایره و با قطر ۲ سانتی متر به وسیله قیچی در ناحیه پشت گردن حیوان در شرایط استریل ایجاد شد به این صورت که ابتدا یک دایره با قطر ۲ سانتی متر روی پوست رسم گردید سپس با پنس پوست را بلند کرده و با قیچی بریده شد.

نحوه مراقبت بعد از جراحی: موش های صحرایی جراحی شده به صورت انفرادی قرار گرفتند و دسترسی آزادانه به غذا و آب داشتند

نمونه گیری: برای انجام مطالعات هیستولوژیک در روز ۱۲ که معرف فاز ترمیم فعال زخم می باشد به صورت تصادفی ۱۰ سر موش صحرایی از هر کدام از گروه های شاهد و تجربی با استنشاق کتامین و زایلازین در محیط بسته از بافت زخم و پوست سالم مجاورش نمونه تهیه و بدون شستشو به منظور ثبوت به مدت یک هفته در فرمالین ۱۰٪ قرار می گرفتند و بعد از طی مراحل آماده سازی در قالب پارافینی قرار گرفتند و توسط میکروتم leitz برش های عرضی شامل پوست سالم و بافت زخم مجاورش با ضخامت ۶ میکرون به صورت سریال تهیه و با همتاکسیلین- اوئوزین جهت مشاهده رگزایی، سلولهای التهابی (نوتروفیل ، ائوزینوفیل و ماست سل) و فیبروبلاست و وانگیسن برای مشاهده کلاژن رنگ آمیزی شدند . به منظور شمارش سلولی از قطعه چشمی Iwf- Iox - Holland استفاده شد. لام ها ابتدا به صورت توصیفی بررسی شدند

پس از بیوپسی، نمونه های تهیه شده بدون شستشو به منظور ثبوت در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. بعد از طی مراحل آماده سازی آنها در قالب پارافینی ، قالب گیری شدند. سپس توسط میکروتم برش های ۶ میکرون به

فرم سریال تهیه و با روش هماتوکسیلین-اوئوزین جهت مشاهده رگ زایی، سلول های التهابی شامل نوتروفیل، ائوزینوفیل و فیروبلاست رنگ آمیزی شدند. برای بررسی دقیق تر ماست سل از روش رنگ آمیزی تولوئیدن بلو نیز استفاده شد. برای تعیین دانسیته فیبرهای کلاژن از رنگ آمیزی تری کروم استفاده شد. شمارش تعداد نوتروفیل، ائوزینوفیل، ماست سل و فیروبلاست با استفاده از لنز شیئی (x400) انجام شد. جهت شمارش رگ زایی ابتدا با لنز شیئی (x100) نواحی دارای تراکم بالای عروق جدید شناسایی، سپس سه فیلد جداگانه در این نواحی انتخاب و شمارش با لنز شیئی (x400) انجام شد (Chen)(24). تعیین و نمره دهی دانسیته فیبرهای کلاژن در بافت رنگ آمیزی شده با تری کروم بر اساس روش پیشنهادی (Talas)(24) انجام شد.

جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری

جامعه مورد مطالعه شامل تعداد ۳۰ حیوان نر با وزن تقریبی بین ۲۰۰ گرم تا ۲۵۰ گرم از موسسه رازی کرج تهیه گردید. حیوانات به صورت تصادفی در ۳ گروه تقسیم گردیدند، و هر گروه شامل ۱۰ موش بود. حیوانات در شرایط محیطی ثابت آزمایشگاهی (دمای $C^{\circ} (21 \pm 2)$ و ۱۲ ساعت شب و ۱۲ ساعت روز با در دست بودن رژیم غذایی) آزاد نگهداری شدند. رفتار با موش ها بر اساس منشور اخلاقی هلسینکی صورت گرفت.

تهیه نانوذرات:

نانوذرات نقره کروی با میانگین قطر ۱۰ نانومتر و با استوک 500ppm غلظت از شرکت نانو دانش کاسپین خریداری شدند. تهیه نانوذرات نقره، با روش شیمیایی و با استفاده از احیای سیترات ، از استوک (Serial dilution) انجام پذیرفت. سپس با روش سری رقت اصلی، رقت های مورد نظر تهیه گشت.

سنجش درصد بهبودی زخم:

در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ پس از ایجاد زخم، درصد بهبودی زخم بر اساس سنجش مساحت زخم بر حسب میلی متر مربع و محاسبه می گردد . این اندازه گیری در ساعات معینی از روز به وسیله فرد خاصی انجام شد. به منظور اندازه گیری سطح زخم، حیوان در وضعیت کروچینگ قرار گرفته و حدود مرز زخم پوستی بر روی یک ورقه شفاف ترانسپارنت ترسیم گردید، سپس برای تعیین سطح دقیق زخم ها از نرم افزار اتوکد استفاده شد. و جهت تعیین درصد بهبودی زخم از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{درصد بهبودی} = \frac{\text{سطح زخم در روز } x - \text{سطح زخم در روز اول}}{\text{سطح زخم در روز اول}} \times 100$$

روش جمع آوری و تجزیه و تحلیل داده ها

در این تحقیق از نرم افزار **SPSS** روش آماری انووا و آزمون **Tukey** و یا در صورت لزوم از آزمون کروسکال والیس ، تی تست ویا مان ویتنی با $P < 0.05$ استفاده شده است. (این مقدار را با عدد ۰/۰۵ مقایسه می کنیم اگر عدد بدست آمده از ۰/۰۵ کوچکتر بود اختلاف گروهها معنی دار و در غیر این صورت گروهها با هم اختلاف معنی دار ندارند)

جدول ۱- جدول متغیر های مطالعه

مقیاس	تعریف علمی	کیفی		کمی		وابسته	مستقل	عنوان متغیر
		رتبه ای	اسمی	گسسته	پیوسته			
CM					✓	✓		قطر زخم
CM ^۲	طول یا سطح زخم				✓	✓		مساحت زخم
mg/ml	غلظت تهیه شده از فلز نقره				✓		✓	غلظت نانو ذرات نقره
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		تعداد نوتروفیل
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		تعداد ماست سل
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		تعداد ائوزینوفیل
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		تعداد فیبروبلاست
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		تعداد رگ
HPF	تعداد در زمینه میکروسکوپ			✓		✓		دانشیه کلاژن

جدول ۲- کدگذاری اسلایدهای بافتی در بررسی های بافت شناسی

شخص کدگذاری	۰	۱	۲	۳	۴
اپی تلیازیسیون	عدم مشاهده ضخیم شدن لبه ها و تکثیر سلولهای خاردار	مشاهده تکثیر سلولهای خاردار و برجسته شدن بافت پوششی در لبه های زخم	مهاجرت سلولهای خاردار روی زخم	پل زدن کامل سلولهای خاردار روی زخم	مشاهده کراتین بر روی زخم
رگزایی	عدم مشاهده رگ خونی	مشاهده ۴-۵ مقطع رگ خونی	مشاهده ۱۵-۱۲ مقطع رگ خونی	مشاهده ۲۰-۱۵ مقطع رگ خونی	مشاهده بیش از ۲۰ مقطع رگ خونی
تشکیل بافت جوانه ای	مشاهده ۷۰٪ اگزودای التهابی	مشاهده بیش از ۶۰٪ اگزودای التهابی و بافت جوانه ای	مشاهده بیش از ۴۰٪ و بافت جوانه ای	مشاهده بافت جوانه ای وسیع به همراه تشکیل رشته های کلاژن و عروق عمود بر رشته های کلاژن	مشاهده بیش از ۸۰٪ بافت کامل

فصل چهارم :

یافته ها و نتایج

نمونه های مورد مطالعه شامل ۲۵ موش صحرایی نر (۵ موش از نمونه خارج شدند) با وزن تقریبی بین ۲۰۰ گرم تا ۲۵۰ گرم می باشد که جهت بررسی اثر مصرف خوراکی نانوذرات نقره بر روی ترمیم زخم تهیه شده و به صورت تصادفی در ۳ گروه تقسیم گردیدند، یک گروه کنترل ، گروه بعدی تحت درمان با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و سومین گروه تحت درمان با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm قرار گرفتند اطلاعات شامل تعداد نوتروفیل، ماست سل، ائوزینوفیل، فیبروبلاست، PMN و دانسیته کلاژن برای هر گروه جمع آوری گردید و با نرم افزار آماری SPSS20 وارد کامپیوتر شد. نتایج به شرح زیر گزارش می گردد:

جدول ۳-جدول معیار های پاتولوژیک ترمیم گروه کنترل

COLLAGEN	EPITHELIZATION	GRANULATION TISSUE	MAST CELL	FIBROBLAST	EOSINOPHIL	PMN
۱	۲	۲	۵	۷۰	۳	۳۵
۱	۲	۲	۴	۷۵	۳	۳۷
۱	۲	۲	۴	۷۷	۴	۳۳
۲	۲	۲	۶	۷۵	۳	۳۵
۲	۲	۲	۳	۷۰	۵	۳۸
۱	۲	۲	۶	۷۵	۵	۴۰
۱	۲	۲	۵	۷۵	۶	۳۲
۱	۲	۲	۵	۷۵	۳	۳۰
۱	۲	۲	۵	۷۰	۴	۳۳
۱	۲	۲	۴	۷۰	۴	۳۵

جدول ۴- جدول معیار های پاتولوژیک ترمیم در گروه با 60ppm

COLLAGEN	EPITHELIZATION	GRANULATION TISSUE	MAST CELL	FIBROBLAST	EOSINOPHIL	PMN
۳	۲	۳	۲	۸۰	۱	۲۰
۲	۲	۳	۲	۸۵	۰	۱۷
۳	۲	۳	۱	۸۰	۰	۲۳
۲	۲	۳	۱	۸۰	۰	۲۰
۳	۲	۳	۳	۷۷	۰	۱۷
۳	۲	۳	۲	۸۰	۰	۲۰
۲	۲	۳	۲	۸۰	۰	۲۰
۳	۲	۳	۲	۷۵	۱	۱۵

نمونه شماره ۳ و ۶ ندارد. (مرگ رت)

جدول ۵- جدول معیار های پاتولوژیک ترمیم در گروه با 30ppm

COLLAGEN	EPITHELIZATION	GRANULATION TISSUE	MAST CELL	FIBROBLAST	EOSINOPHIL	PMN
۳	۳	۳	۲	۱۰۰	۲	۲۵
۳	۳	۳	۲	۱۰۰	۲	۲۵
۳	۳	۳	۲	۱۰۵	۲	۲۳
۳	۳	۳	۳	۱۰۰	۱	۲۵
۳	۳	۳	۱	۱۱۰	۱	۲۰
۳	۳	۳	۱	۱۱۰	۲	۲۵
۳	۳	۳	۲	۱۰۰	۲	۲۵

نمونه ۱ و ۲ و ۶ نیست. (مرگ رت)

جدول ۶- داده های حاصل از اندازه گیری قطر زخم (درصد بهبودی)

	d۲	d۴	d۶	d۸	d۱۰
control	۴,۲۴۰۵۳۴	۶,۷۵۹۴۳۴	۵,۱۰۰۰۹۱	۳,۷۲۴۰۶۴	۲,۰۶۶۹۴۱
silver۳۰mg/kg	۸,۶۶۴۴۹۷	۷,۴۹۰۲۵۲	۷,۶۶۵۷۰۱	۷,۱۱۳۵۶۸	۲,۹۴۵۸۸۲
silver۱۰mg/kg	۱۱,۷۰۰۵۴	۷,۰۷۱۸۴۲	۸,۰۴۶۱۳۷	۲,۲۶۲۸۷۹	۱,۶۱۳۶۴۵

جدول ۱-۷-مقایسه میانگین دانسیته کلاژن در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۱,۲	۰,۴۲	۵۰,۲	۰,۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۳	۰		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۲,۶۳	۰,۵۱		

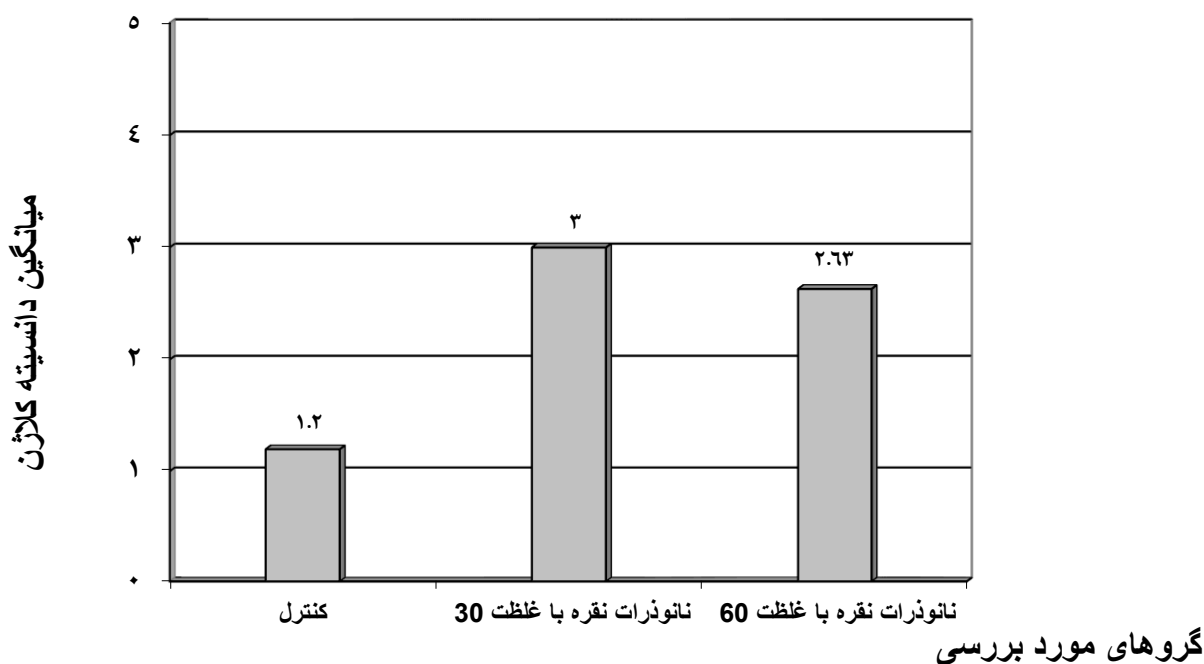
با استفاده از آزمون ANOVA مقدار $p = 0.001$ بدست آمد مقدار p بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین میزان دانسیته کلاژن در سه گروه است. جهت بررسی تفاوت دودوی گروهها از زیر آزمون توکی استفاده می شود.

جدول ۲-۷-مقایسه تفاضل دویه دوی دانسیته کلاژن در سه گروه مورد بررسی

گروه	تفاضل دو گروه	p-value
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۱,۸	۰,۰۰۱
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۱,۴۲	۰,۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و 60ppm	۰,۳۷	۰,۱۸

از آنچه در جدول فوق مشاهده می شود نتیجه می گیریم گروه کنترل با دو گروه نانوذرات با غلظت ۳۰ و ۶۰ تفاوت معنی دار دارد و میزان دانسیته کلاژن در این دو گروه بیشتر از کنترل می باشد.

نمودار ۱- بررسی دانسیته کلاژن در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل



نمودار مقایسه دانسیته کلاژن در روز دوازدهم در گروه کنترل و گروه با نانوذرات 60ppm و گروه با نانوذرات 30ppm میزان دانسیته کلاژن در روز دوازدهم اختلاف معنی داری را نشان می دهد. ($p < .001$).

جدول ۸- مقایسه میانگین EPITHELIZATION در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۲	۰	-	-
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۳	۰		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۲	۰		

به دلیل یکسان بودن تمام اعداد در گروه ها و صفر بودن انحراف معیار مقدار p قابل محاسبه نمی باشد

جدول ۹ - مقایسه میانگین GRANULATION TISSUE در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۲	۰	-	-
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۳	۰		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۳	۰		

به دلیل یکسان بودن تمام اعداد در گروهها و صفر بودن انحراف معیار مقدار p قابل محاسبه نمی باشد

جدول ۱۰-۱ - مقایسه میانگین میزان ماست سل در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۴,۷	۰,۹۴	۳۸	۰,۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۱,۸۶	۰,۶۹		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۱,۸۸	۰,۶۴		

با استفاده از آزمون ANOVA مقدار $p = ۰,۰۰۱$ بدست آمد، مقدار p بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین میزان ماست سل در سه گروه است. جهت بررسی تفاوت دوبدوی گروهها از زیر آزمون توکی استفاده می شود.

جدول ۲-۱۰- مقایسه تفاضل دویه دوی ماست سل در سه گروه مورد بررسی

گروه	تفاضل دو گروه	p-value
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۲,۸۴	۰,۰۰
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۲,۸۲	۰,۰۰
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و 60ppm	۰,۰۲	۰,۹۹

از آنچه در جدول فوق مشاهده می شود نتیجه می گیریم گروه کنترل با دو گروه نانوذرات با غلظت ۳۰ و ۶۰ تفاوت معنی دار دارد و میزان ماست سل در این دو گروه کمتر از کنترل می باشد.

نمودار ۲_ بررسی ماست سل در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل



نمودار مقایسه ماست سل در روز دوازدهم در گروه کنترل و گروه با نانوذرات 60ppm و گروه با نانوذرات 30ppm همانطور که مشاهده می شود میزان سلول های التهابی چون اماست سل در گروه کنترل بیشتر می باشد

جدول ۱-۱۱- مقایسه میزان میانگین فیروبلاست در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۷۳,۲	۲,۸	۱۶۵	۰,۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۱۰۳,۵	۴,۷		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۷۹,۶	۲,۸		

با استفاده از آزمون ANOVA مقدار $p = ۰,۰۰۱$ بدست آمد، مقدار p بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین میزان فیروبلاست در سه گروه است.

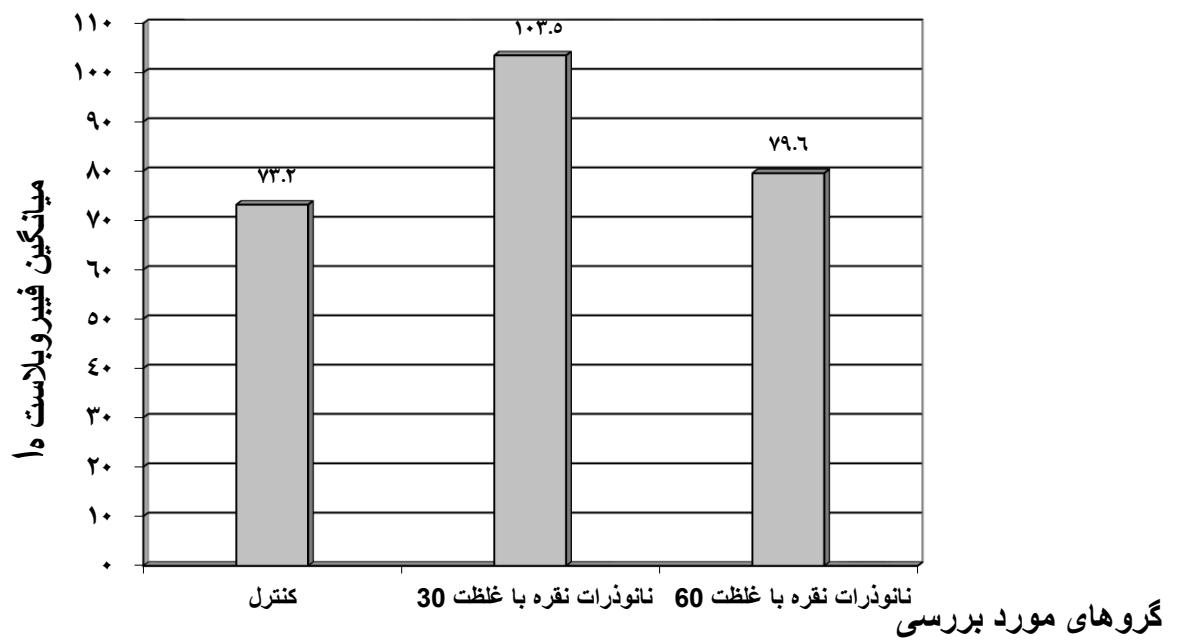
جهت بررسی تفاوت دوبروی گروهها از زیر آزمون توکی استفاده می شود.

جدول ۲-۱۱- مقایسه تفاضل دویه دوی فیروبلاست در سه گروه مورد بررسی

گروه	تفاضل دو گروه	p-value
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۳۰,۳	۰,۰۰۱
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۶,۴	۰,۰۰۲
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و 60ppm	۲۳,۹	۰,۰۰۱

از آنچه در جدول فوق مشاهده می شود نتیجه می گیریم هر سه گروه با هم تفاوت معنی دار دارند و میزان فیروبلاست در گروه نانوذرات نقره با غلظت 30ppm بیشتر از دو گروه دیگر می باشد.

نمودار ۳_ بررسی فیبروبلاست در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل



نمودار مقایسه فیبروبلاست در روز دوازدهم در گروه کنترل و گروه با نانوذرات 60ppm و گروه با نانوذرات 30ppm همانطور که مشاهده می شود میزان فیبروبلاست ها از گروه کنترل بیشتر و وابسته به دوز نانوذرات می باشد.

جدول ۱-۱۲- مقایسه میزان میانگین ائوزینوفیل در سه گروه مورد بررسی

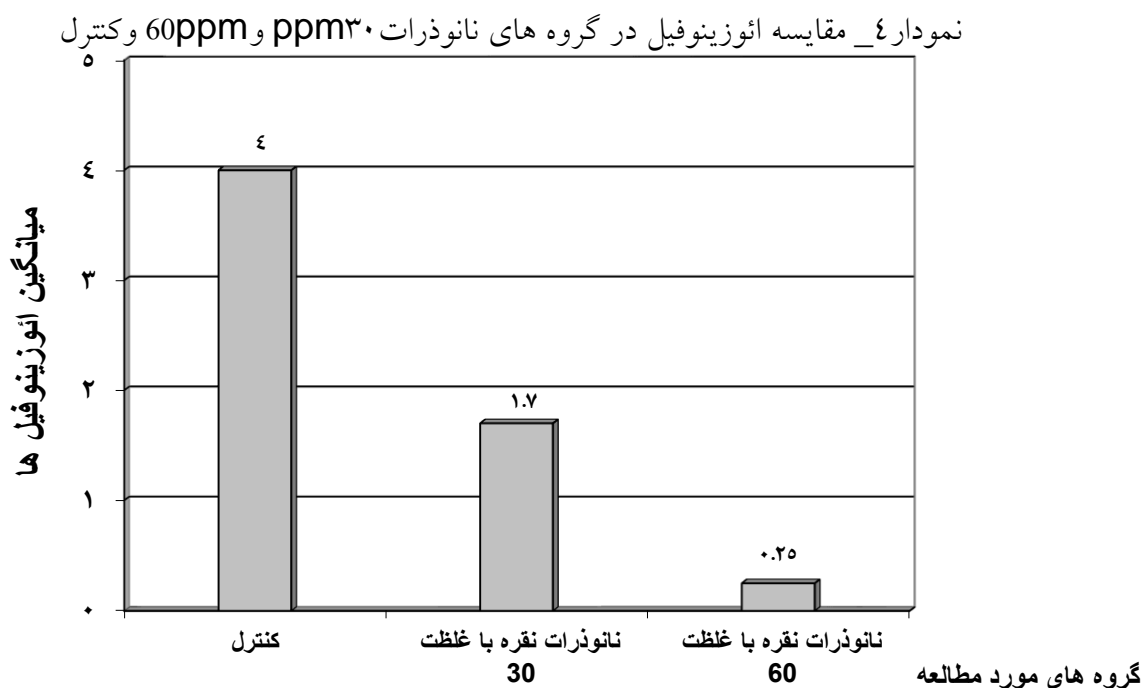
گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۴	۱	۵۴٫۸	۰٫۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۱٫۷	۰٫۴		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۰٫۲۵	۰٫۱		

با استفاده از آزمون ANOVA مقدار $p = 0.001$ بدست آمد، مقدار p بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین میزان ائوزینوفیل در سه گروه است. جهت بررسی تفاوت دودوی گروهها از زیر آزمون توکی استفاده می شود.

جدول ۲-۱۲- مقایسه تفاضل دویه دوی ائوزینوفیل در سه گروه مورد بررسی

گروه	تفاضل دو گروه	p-value
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۲٫۳	۰٫۰۰۱
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۳٫۷۵	۰٫۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و 60ppm	۱٫۴۵	۰٫۰۰۴

از آنچه در جدول فوق مشاهده می شود نتیجه می گیریم هر سه گروه با هم تفاوت معنی دار دارند و میزان ائوزینوفیل در گروه کنترل بیشتر از دو گروه دیگر می باشد



نمودار مقایسه ائوزینوفیل در روز دوازدهم در گروه کنترل و گروه با نانوذرات ۶۰ ppm و گروه با نانوذرات ۳۰ ppm. همانطور که مشاهده می شود میزان سلول های التهابی چون ائوزینوفیل در گروه کنترل بیشتر می باشد.

جدول ۱-۱۳- مقایسه میزان میانگین PMN در سه گروه مورد بررسی

گروه	میانگین	انحراف معیار	F	P-value
کنترل	۳۴٫۸	۲٫۹	۸۹	۰٫۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۲۴	۱٫۹		
نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۱۹	۲٫۵		

با استفاده از آزمون ANOVA مقدار $p = 0.001$ بدست آمد، مقدار p بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین میزان PMN در سه گروه است.

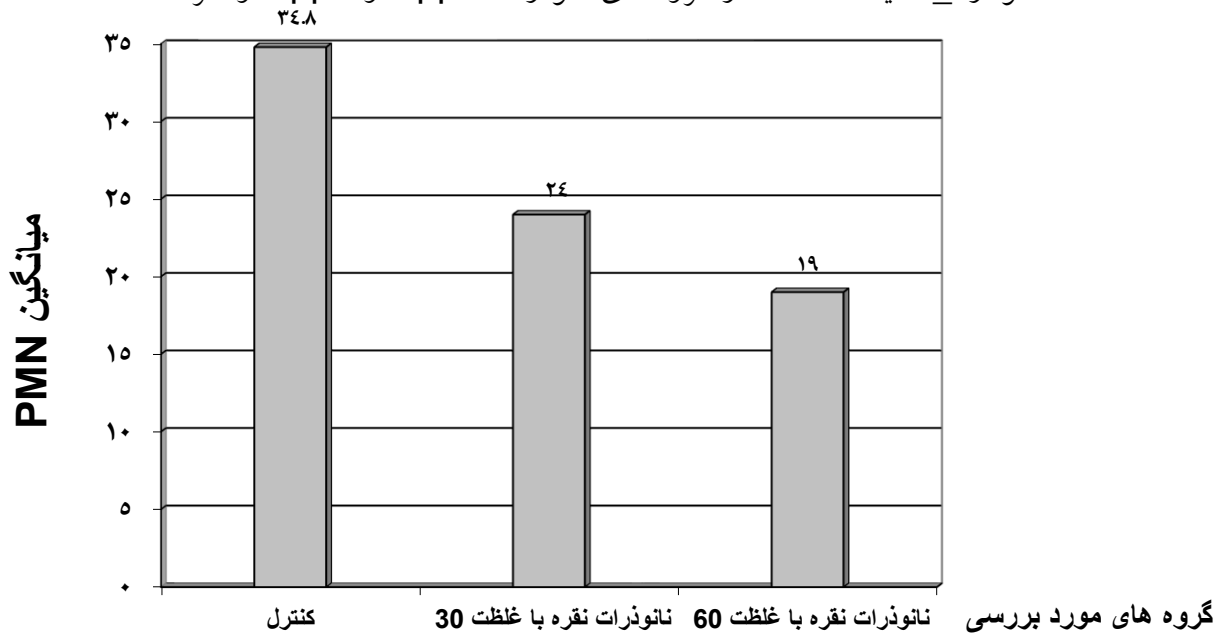
جهت بررسی تفاوت دوبدوی گروههای زیر آزمون توکی استفاده می شود.

جدول ۲-۱۳ - مقایسه تفاضل دویه دوی PMN در سه گروه مورد بررسی

گروه	تفاضل دو گروه	p-value
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 30ppm	۱۰٫۸	۰٫۰۰۱
کنترل با نانوذرات نقره با غلظت 60ppm	۱۵٫۸	۰٫۰۰۱
نانوذرات نقره با غلظت 30ppm و 60ppm	۵	۰٫۰۰۳

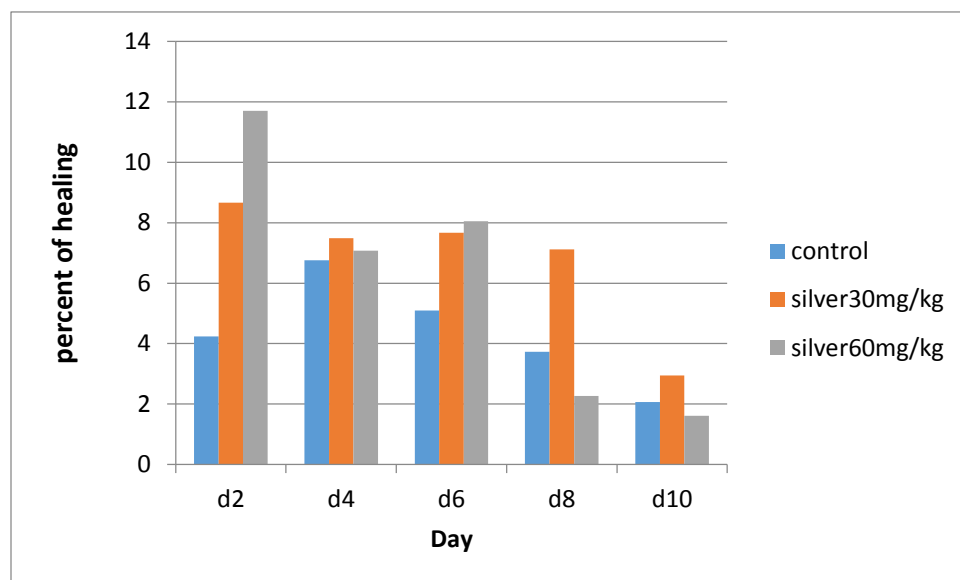
از آنچه در جدول فوق مشاهده می شود نتیجه می گیریم هر سه گروه با هم تفاوت معنی دار دارند و میزان PMN در گروه کنترل بیشتر از دو گروه دیگر است.

نمودار ۵- مقایسه PMN در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل

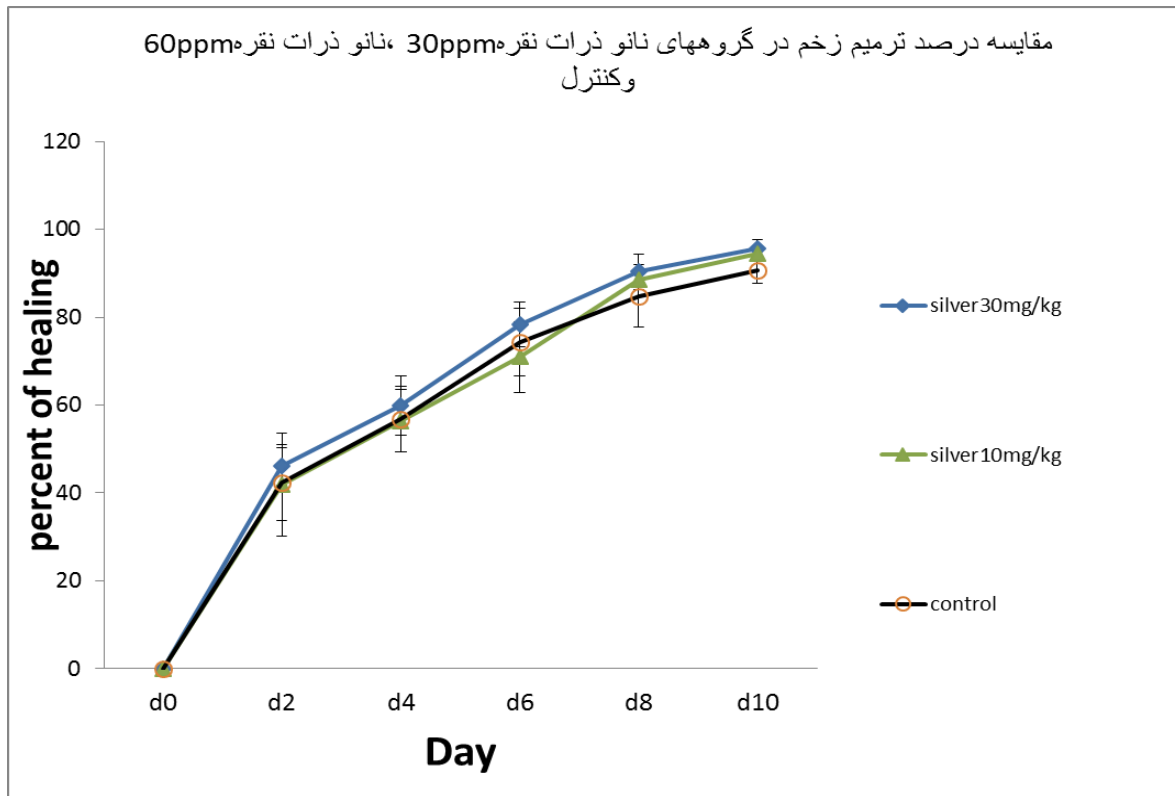


نمودار مقایسه PMN در روز دوازدهم در گروه کنترل و گروه با نانوذرات 60ppm و گروه با نانوذرات 30ppm. همانطور که مشاهده می شود میزان سلول های التهابی چون PMN در گروه کنترل می باشد.

نمودار ۶- بررسی قطر زخم (درصد بهبودی) در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل

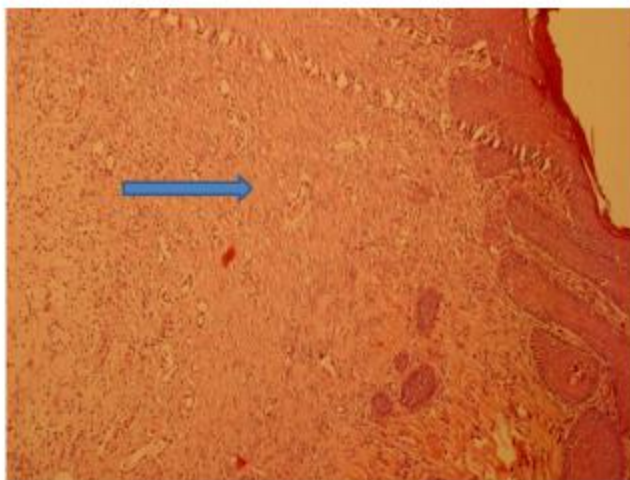


نمودار ۷- مقایسه درصد بهبود زخم در گروه های نانوذرات 30ppm و 60ppm و کنترل

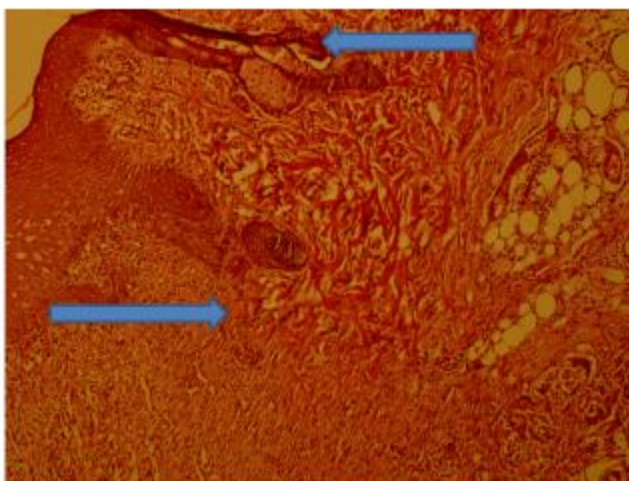


با توجه به نمودارهای فوق متوجه می شویم که درصد بهبودی در گروه تیمار با ۳۰ppm اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل و گروه تیمار ۶۰ppm دارد. با توجه به اندازه گیری قطر زخم در روز های ۲و ۶ متوجه اختلاف معنی دار در گروه ۶۰ppm می شویم ولی در روز های ۸و ۱۰ دیده نمی شود .

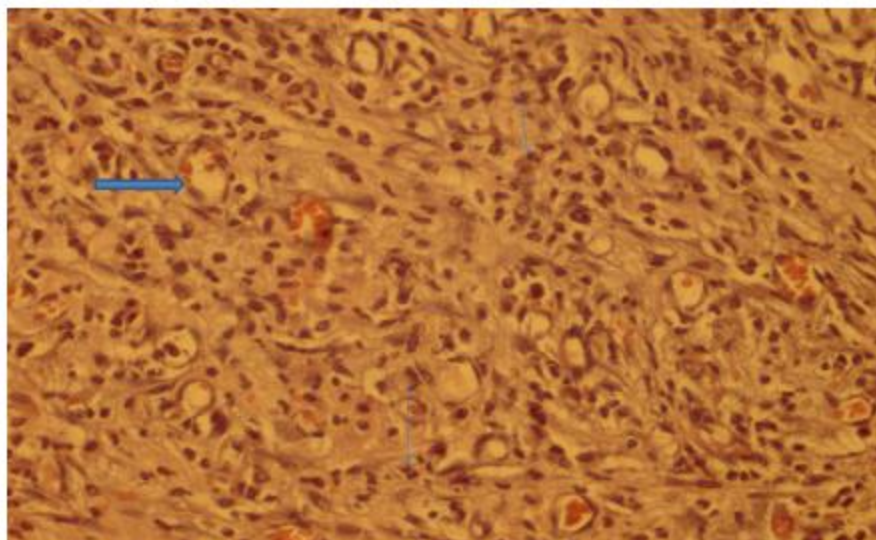
شکل ۹- رسوب فیبرهای کلاژن و تکثیر فیبروبلاست هادر ترمیم زخم. درشتنمایی ۱۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



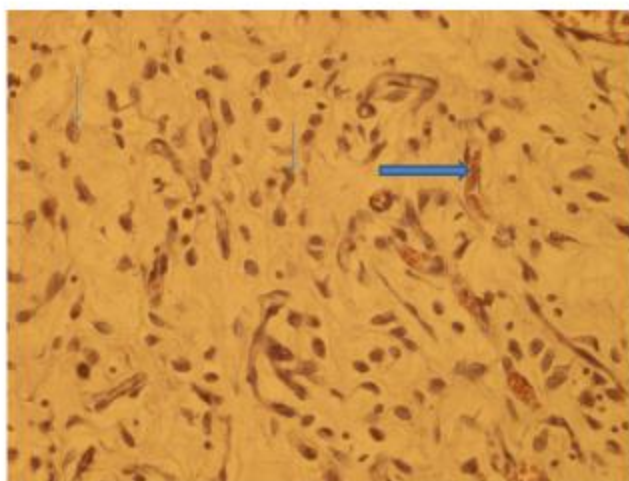
شکل ۱۰- رسوب فیبرهای کلاژن و تکثیر فیبروبلاست ها و عدم وجود ضمائم پوستی در بافت ترمیم یافته زخم. درشتنمایی ۱۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



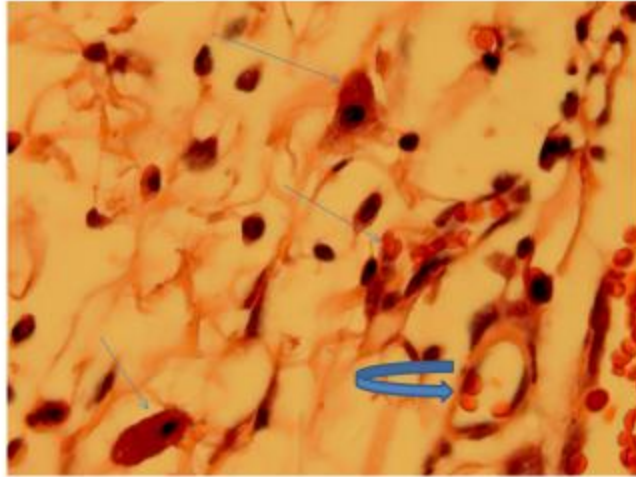
شکل ۱۱- تکثیر عروقی و وجود ارتشاح نوتروفیل ها (جوانه گوشتی) در ترمیم زخم. درشتنمایی ۱۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



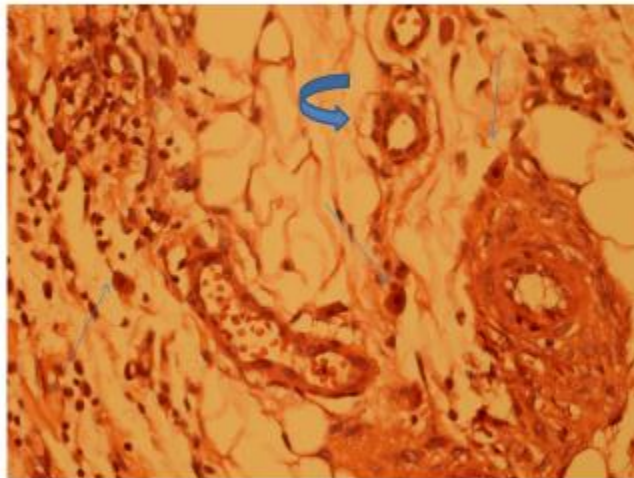
شکل ۱۲- تکثیر عروقی و فیبروبلاست هادر ترمیم زخم. درشتنمایی ۴۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



شکل ۱۳- تکثیر عروقی و وجود ماست سل نزدیک عروق در ترمیم زخم. درشتنمایی ۱۰۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



شکل ۱۴- تکثیر عروقی و وجود ماست سل نزدیک عروق در ترمیم زخم. درشتنمایی ۴۰. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).



فصل پنجم :

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه درصد بهبودی زخم در روز ۱۲ بین گروه کنترل و گروه های تحت تیمار با نانوذرات نقره تفاوت معنی دار نشان داد ($p<0.001$). در روز دوازدهم تیمار حیوانات تحت بررسی بین همه گروه های تحت تیمار و گروه کنترل تفاوت درصد بهبودی با $P<0.001$ معنی دار بود. با توجه به نمودارهای ۶ و ۷ متوجه می شویم که درصد بهبودی در گروه تیمار با ۳۰ppm اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل و گروه تیمار ۶۰ppm دارد. با توجه به اندازه گیری قطر زخم در روز های ۲ و ۶ متوجه اختلاف معنی دار در گروه ۶۰ppm می شویم ولی در روز های ۸ و ۱۰ دیده نمی شود که این می تواند به خاطر اثرات سیتوتوکسیک نانوذرات نقره باشد.

همچنین میزان ائوزینوفیل ها در گروه کنترل در روز دوازدهم بیشتر از گروه های تیمار بود که اختلاف معنی داری را نشان می داد. ($p<0.001$). میزان ماست سل در گروه کنترل در روز دوازدهم بیشتر از گروه های تیمار بود که اختلاف معنی داری را نشان می داد. ($p<0.001$). میزان پلی مورفونوکلئور ها در گروه کنترل در روز دوازدهم بیشتر از گروه های تیمار بود که اختلاف معنی داری را نشان می داد. ($p<0.001$). کاهش میزان سلول های التهابی (ماست سل ، ائوزینوفیل ، پلی مورفونوکلئور ها) در روز دوازدهم نشان دهنده تاثیر ضد التهابی و تسریع در روند بهبود زخم نانوذرات نقره می باشد. بر هم کنش سلول-سلول و سلول-ماتریکس در تمام مراحل زخم لازم می باشد که توسط فاکتورهایی مثل TNF, TGF, VEGF, الف و بتا و ۱۱الف ، ۱۱ب تنظیم می شود. نانوذرات با اثر بر این سایتوکین ها اثرات ضد التهابی اعمال می کنند. نانوذرات نقره بر اساس اندازه ، قطر و غلظت می توانند سمیت داشته باشند (با توجه به مطالعات). Susan W.P در سال ۲۰۰۸ نشان داد که با تغییر اندازه و غلظت نانوذرات توزیع آنها در بدن و اثراتشان متفاوت می گردد (۴۸). اختلاف معنی داری در میزان اپی تلیازیسین و بافت جوانه گوشتی بین گروه ها (با توجه به نزدیک بودن میانگین گروه ها) مشاهده نشد. با این وجود با توجه به درصد بهبودی و قطر زخم می توان نتیجه گرفت که نانوذرات در این مورد نیز اثر مثبتی بر تسریع بهبودی زخم دارد. میزان دانسیته کلاژن و میزان فیبروبلاست اختلاف معنی داری در گروه های تیمار نسبت به کنترل و نشان می دهد ($p<0.001$). اختلاف معنی دار در میزان فیبروبلاست ها در روز دوازدهم در گروه های ۶۰ppm نسبت به ۳۰ppm مشاهده شد که نشان دهنده اثرات سیتوتوکسیک در غلظت ۶۰ppm و بالا می باشد. نانوذرات نقره دارای نقش ثابت شده ای در روند ترمیم زخم دارند. میزان کوچک شدن یک زخم معیار خوبی برای ارزیابی میزان بهبودی زخم است . سطح زخم هم زمان با التیام مساحت زخم کاهش می یابد، علت این کاهش وجود پدیده جمع شدن زخم و رسوب بافت پیوندی می باشد. پدیده انقباض به سبب وجود میو فیبروبلاست می باشد و به واسطه خاصیت انقباضی خود لایه

اپیدرم را کشیده و موجب کاهش ابعاد زخم می شوند. سرعت جمع شدگی زخم که در طی آن اندازه زخم باز توسط حرکت رو به مرکز پوست اطراف آن کاهش می یابد می تواند ناشی از خواص انقباضی میوفیبروبلاست های موجود در بافت جوانه ای زخم گرانولاسیون باشد. آزمایش های مربوط به اندازه گیری سطح زخم و محاسبه درصد بهبودی آن روز دوازدهم نشان داد که استفاده از ترکیبات نانوذرات نقره اختلاف معنی داری در روند ترمیم زخم نسبت به گروه کنترل و بین گروه ها (بین 30ppm و 60ppm) ایجاد می نماید. رگ زایی عامل مهمی در ترمیم زخم است و طی آن محل زخم از عروق خونی اشباع می شود و این پدیده برای تغذیه زخم ضروری بوده و در صورت عدم ایجاد آن التیام صورت نمی گیرد. عاملی که سبب تحریک رگ زایی شود می تواند سبب پیشرفت به هنجار روند التیام شود. بخش مهمی از ترمیم زخم مدیون نئوواسکولاریزاسیون است و بدون آن تهاجم ماکروفاژها و فیبروبلاست ها به درون زخم به واسطه عدم وجود اکسیژن و مواد غذایی مفید نیست. سلول های فیبروبلاست یکی از موثرترین و مهمترین سلول در پدیده ترمیم زخم می باشند که خود را به محل زخم می رسانند و در طول تکثیر آنها میزان سنتز کلاژن تا سه هفته به طور مداوم زیاد می شود تا تعادل ایجاد شود. در این مطالعه پرولیفراسیون فیبروبلاست ها وابسته به دوز نانوذرات می باشد (نمودار ۳). دانسیته کلاژن اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان می دهد و همچنین وابسته به دوز نانوذرات می باشد (نمودار ۱). همچنین میزان دانسیته کلاژن در گروه 30 ppm بیشتر از بقیه است. با توجه به مقایسه سلول های التهابی (مقایسه PMN و ائوزینوفیل ها و ماست سل ها) در روز دوازدهم نشان دهنده تسریع در روند بهبود زخم می باشد (نمودار ۵ و ۲). مقایسه بافت گرانولاسیون و اپی تلیازسیون با توجه به برابری در مقدار میانگین اختلاف معنی دار حاصل نشد. نتایج ارائه شده در این مطالعه بخوبی اثر مثبت نانوذرات نقره را در بهبودی زخم نشان می دهند. مطالعه در مورد اثر نانوذرات نقره در روند ترمیم زخم به چند مطالعه محدود ختم می شود ولی در مورد اثرات انتی باکتریال چندین مطالعه انجام شده است.

فاطمه ابوطالبی و سمیرا کرم سیچانی در سال ۹۱ ترکیب نانوذرات نقره با عصاره کدو حلوائی را بر ترمیم سوختگی در موش سوری نژاد البینو در ۸ گروه ۸ تایی بررسی کردند. این مطالعه نشان داد که ترکیب نانوذرات نقره با عصاره کدو حلوائی اثر سینرژیک بر ترمیم زخم سوختگی دارد

مثلا در مورد مطالعه محتشمی و سپهری سرشت بر روی سنتز نانوذرات به روش احیای شیمیایی و اثر انتی باکتریال تحقیق شده است که نانونقره ی کوچک تر حاصل از احیاء شیمیایی، فعالیت خوبی بر ضد باکتری های گرم منفی و

گرم مثبت داشت و در غلظت ۰/۲ میلی مولار از رشد تمام باکتری‌ها جلوگیری کرد، اما نانوذرات درشت‌تر فعالیت بسیار کمتری داشتند (۲۵) و یا مطالعه رضویان در مورد تغییر پارامترهای خون با مصرف نانوذرات نقره خوراکی در سال ۲۰۱۴ نشان دهنده چنین تاثیری بوده است. در این مطالعه تغییر هماتولوژیکال و بیوشیمیایی مصرف نانوذرات خوراکی در موش نر ویستار بررسی گردید.

مطالعات بسیاری اثرات انتی میکروبیال و سیتوتوکسیک نانوذرات نقره را بررسی کرده اند.

مانند مطالعه های:

Manolache S در سال ۲۰۰۴ بر روی رشد فاکتورهای انتی میکروبیال در خون در اثر نانوذرات نقره را بررسی نمود. این مطالعه تاثیر انتی میکروبیال نانوذرات نقره را در خون نشان داد.

Cao, Y. C در سال ۲۰۰۲ تاثیر نانوپارسیکل های نقره بر روی DNA و RNA را بررسی نمود (۳۱)

مطالعه Cho, K. H - در سال ۲۰۰۴ اثر انتی باکتریال نانوپارسیکل های نقره و اثر الکتروشیمی آن را را بررسی می نماید.

مطالعه Babu K اثر نانوذرات نقره بر روی تقسیم کروموزومی میتوتیک شواهد مویدی را نشان می دهد.

مطالعات بسیار دیگری در مورد اثرات ضد رشد میکروبیال اعم از باکتریال و ویروس و قارچ انجام شده است. البته مطالعات در مورد اثرات سیتوتوکسیک و اثر بر روی ژرم سل ، فیروبلست نانوذرات نقره نیز انجام شده است.

(نظیر مطالعه Braydich-Stolle L, Hussain S)

مطالعات زیادی در مورد زخم با فراورده های مختلفی چون عسل، ترکیبات حاوی موم زنبور عسل، کلپوره ، ترکیبات پروپولیس و روغن شتر مرغ، روغن مورد، مومیایی و.. انجام شده است که نشان دهنده تاثیرات مثبت بر روی زخم بوده است. در گذشته از نیترات نقره برای ضد عفونی کردن زخم ها در جنگ استفاده می شده است بر آن شدیم تا تاثیر نانوذرات نقره را بر روند بهبود زخم بررسی نماییم..

نتیجه کلی: : نانوذرات نقره با غلظت ۳۰ppm با القای اثرات ضد التهابی ، افزایش تکثیر سلول های فیروبلست و

بیان کلاژن تسریع روند بهبود زخم را به دنبال دارد

پیشنهادات:

از نانو سیلور، به عنوان دارو می توان در درمان بیماریهای پوستی، آکنه، انواع جراحات و سوختگی ها، بیماریهای باکتریایی و قارچی، بیماریهای گوارشی، بیماریهای جنسی و ایدز استفاده نمود. نانو نقره ماده ای با سمیت بالا است که با تولید گونه های آزاد اکسیژن همراه است. بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی، وابسته به دوز بودن آن را تایید کرده اند. (In vitro). نقره در نانوتکنولوژی نوین، بسته بندی مواد و پزشکی کاربردهای مختلفی دارد. از طرفی یون های نقره طی چندین رویداد بیولوژیک مثل اتصال با غشای سلولی و جذب به دیواره سلولی، نفوذ پذیری غشای سلول های زنده را تغییر داده و با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن، آنزیم های سلولی را غیرفعال می کند. این ویژگیها ممکن است دارای تاثیرات منفی بر سلامتی و محیط باشند و منجر به سمیت بالای نانو ذرات نقره شوند (۴۵،۴۶). البته تاثیر انتی باکتریال و انتی وایرال و انتی فانگال نانوذرات نقره به اثبات رسیده است. که این تاثیر انتی باکتریال می تواند به عنوان یک انتی بیوتیک مناسب در زخم های عفونی مورد استفاده قرار بگیرند. از طرفی، اگر این تاثیر سمی بر بقایای سلول های مرده در زخم های پوستی اعمال شود، در ترمیم سوختگی ها و ضایعات پوستی می تواند موثر واقع شود. اما، از آنجایی که تاثیر این نانو ذرات به صورت هوشمند نبوده و بر تمام سلول ها اثر دارند، شاید بتوان با تغییر فرمولاسیون آن ها و یا، ترکیب این مواد با عصاره های گیاهی و طراحی نانوکوپوزیت های گیاهی اثرات مضر آن ها را کاهش، و اثرات مفید آن ها را تشدید نمود. لذا پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی با ایجاد کمپلکس های جدید از نانوذرات نقره که زیست سازگار باشند اثر آنها با هوشمند بیشتری بر روی ترمیم زخم به خصوص سوختگی ها و زخم های مکانیکی انجام گردد.

محدودیت ها:

این مطالعه یک مطالعه تجربی بوده که در دو غلظت متفاوت نانوذرات نقره ۳۰ppm و ۶۰ppm انجام شده است لذا حجم نمونه کم اختیار شده است. در صورت انجام کارآزمایی بالینی حجم نمونه باید افزایش پیدا کند. در این مطالعه تعدادی موش از بین رفتند و از مطالعه خارج شدند. در مطالعه مقدارهای مثل ۴۰ppm و یا ۵۰ppm هنوز بررسی نگردیده اند.

Effect of oral administration of silver nanoparticles in wound healing of male Rats

Background: In this study the effect of silver nanoparticles on wound healing are examined.

Methods: 30 Wistar male rats weighing 200 to 250 g were divided into three groups (10 animals per group). The first group was the control group, the second group received 30ppm silver nanoparticles and third group 60 ppm silver nanoparticles were treated by oral administration.

Results: The amounts of wound healing in the 2 treated groups in the time scales of 12 days showed a significant difference between 30ppm treated group and control group were obtained $P < 0.001$ and the difference of 60ppm treated group and control group was significant with $P < 0.05$.

Discussion: The wound healing obtained from silver nanoparticles concentration in the two treated groups was increased significantly in comparison with control group. The results of histologic examination of collagen density increased significantly between the 2 group (silver nanoparticles treated) and control group ($P < 0.001$). The decreasing of mast cells, eosinophils and PMN in the 2 group (silver nanoparticles treatment) in the time scales of 12 days showed significant difference compared to control group ($P < 0.05$).

Conclusion: in this study nanosilver particles in 30ppm concentration was administrated for wound healing in wistar male rat was more effective than 60 ppm and control. It can be emphasize that this healing process occurred in the synergicity of improvement of proliferating and anti inflammatory effect.

Keywords: Wound healing, silver nanoparticles, cytotoxicity, fibroblast, collagen

١. Robbins, General basic pathology, second chapter, the ninth edition, Venerable publications, pp ٨٢-٨٤
٢. Ezedyar B. Effects fundermol on the healing process in rats compared with saline, Student thesis ٧٤, Page ٤٢
٣. Tomas k. The physiology of wound healing annualos of emergency medicin ١٩٨٨; ١٧: ١٢٦٥-٨٨
٤. Oliveira Mussel, R. L., Sa Silva, E., Costa, A. M. A., & Mandarim-De-Lacerda, C. A. (٢٠٠٣). Mast cells in tissue response to dentistry materials: an adhesive resin, a calcium hydroxide and a glass ionomer cement. *Journal of cellular and molecular medicine*, ٧(٢), ١٧١-١٧٨.
٥. Wayne, K.alexander, G.Gordan. G.physiology and healing dynamics of choronic coetaneus wound;
٦. Schwartz's Principles of Surgery ٢٠١٠ Season ٨, wound healing, Venerable publications, Page ٥٩-٦٤
- ٧- Chen, D., Xi, T., & Bai, J. Biological effects induced by nanosilver particles: in vivo study. *Biomedical Materials*. (٢٠٠٧) ٢(٣): ١٢٦-٨.
- ٨- Oberdörster, G., Stone, V., & Donaldson, K. (٢٠٠٧). Toxicology of nanoparticles: a historical perspective. *Nanotoxicology*, ١(١), ٢-٢٥.
- ٩- Ahari, H., Peykan, R., & Dastmalchi, F. (٢٠٠٨). Nanotechnology in medicine and veterinary medicine. *Tehran, Jahad Daneshgahi of Tehran Branch publication Co*, ١٥-٢٥.
- ١٠- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (٢٠٠٩). Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicology and applied pharmacology*, ٢٣٦(٣), ٣١٠-٣١٨.
- ١١- Choi, O., Deng, K. K., Kim, N. J., Ross, L., Surampalli, R. Y., & Hu, Z. (٢٠٠٨). The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water research*, ٤٢(١٢), ٣٠٦٦-٣٠٧٤.
- ١٢- ChenX, Schluesener HJ. Nanosilver: Ananoproduct in medical application.Toxicol Lett. ٢٠٠٨; ١٧٦(١):١-١٢

- ۱۳- AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveettil, S. (۲۰۰۸). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS nano*, ۲(۲), ۲۷۹-۲۹۰.
- ۱۴- Babu, K., Deepa, M., Shankar, S. G., & Rai, S. (۲۰۰۸). Effect of nano-silver on cell division and mitotic chromosomes: a prefatory siren. *Internet J Nanotechnol*, ۲(۲), ۹۵-۱۰۱.
- ۱۵- Hussain, S. M., & Schlager, J. J. (۲۰۰۹). Safety evaluation of silver nanoparticles: inhalation model for chronic exposure. *Toxicological sciences*, ۱۰۸(۲), ۲۲۳-۲۲۴.
- ۱۶- Sung, J. H., Ji, J. H., Yoon, J. U., Kim, D. S., Song, M. Y., Jeong, J., & Yu, I. J. (۲۰۰۸). Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles. *Inhalation toxicology*, ۲۰(۶), ۵۶۷-۵۷۴.
- ۱۷- Cha, K., Hong, H. W., Choi, Y. G., Lee, M. J., Park, J. H., Chae, H. K., ... & Myung, H. (۲۰۰۸). Comparison of acute responses of mice livers to short-term exposure to nano-sized or micro-sized silver particles. *Biotechnology letters*, ۳۰(۱۱), ۱۸۹۳-۱۸۹۹.
- ۱۸- Braydich-Stolle, L., Hussain, S., Schlager, J. J., & Hofmann, M. C. (۲۰۰۵). In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological sciences*, ۸۸(۲), ۴۱۲-۴۱۹.
- ۱۹- Hussain, S. M.; Hess, K. L.; Gearhart, J. M.; Geiss, K. T. & Schlager, J. J. (۲۰۰۵). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL ۳A rat liver cells. *Toxicol in Vitro*, ۱۹, (۷), ۹۷۵-۹۸۳
- ۲۰- Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., ... & Yu, I. J. (۲۰۰۸). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation toxicology*, ۲۰(۶), ۵۷۵-۵۸۳.
- ۲۱- Razavian MH, Safarpour E, Roshanai K, Yazdian MR, Heidarieh N. Study of Some Biochemical and Hematological Parameters Changes of Wistar Rats Blood Parallel to Oral Nanosilver Consumption. *J Babol Univ Med Sci*. ۲۰۱۱; ۱۳(۱):۲۲-۲۷
- ۲۲- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., ... & Cho, M. H. (۲۰۰۷). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, ۲(۱), ۹۵-۱۰۱.

۲۳- Razavian, M. H., & Masaimanesh, M. (۲۰۱۴). Ingestion of silver nanoparticles leads to changes in blood parameters. *Nanomedicine Journal*, ۱(۵), ۳۳۹-۳۴۵.

۲۴- Talas DU, Nayci A, Atis S, Polat A, Comelekoglu U, Bagdatoglu C, Renda N. The effects of corticosteroids on the healing of tracheal anastomoses in a rat model. *Pharmacol Res* ۲۰۰۲; ۴۵: ۲۹۹-۳۰۴

Chiung-Nien Chen, Fon-Jou Hsieh, Yunn-Ming Cheng, Wen-Fan Cheng,
Yi-Ning Su, King-Jen Chang, Po-Huang Lee.

۲۵- Mohtashami M, Sepehri seresht S, Asli E, Boroumand M, Ghasemi A. Synthesis of silver nanoparticles through chemical reduction and biosynthesis methods and evaluation of their antibacterial effects. *RJMS*. ۲۰۱۳; ۱۹ (۱۰۳) :۶۵-۷۴

۲۶- Q L Feng, FZ Cui, TN Kim, and J W Kim, *J. Mater. Sci. Lett.* ۱۸ (۱۹۹۹) ۵۵۹.

۲۷- Shipway, A. N., Katz, E., & Willner, I. (۲۰۰۰). Nanoparticle arrays on surfaces for electronic, optical, and sensor applications. *ChemPhysChem*, ۱(۱), ۱۸-۵۲.

۲۸- Rao CNR, Nath M. Inorganic nanotubes. *Dalton Trans.* ۲۰۰۳; ۱:۱-۲۴.

۲۹ - Hussain, S., & Pal, A. K. (۲۰۰۸). Incorporation of nanocrystalline silver on carbon nanotubes by electrodeposition technique. *Materials Letters*, ۶۲(۱۲), ۱۸۷۴-۱۸۷۷.

۳۰- Cho, K. H., Park, J. E., Osaka, T., & Park, S. G. (۲۰۰۵). The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. *Electrochimica Acta*, ۵۱(۵), ۹۵۶-۹۶۰.

۳۱- Cao, Y. C., Jin, R., & Mirkin, C. A. (۲۰۰۲). Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science*, ۲۹۷(۵۵۸۶), ۱۵۳۶-۱۵۴۰.

۳۲- Jiang, H., Manolache, S., Wong, A. C. L., & Denes, F. S. (۲۰۰۴). Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, ۹۲(۳), ۱۴۱۱-۱۴۲۲.

۳۳- McLeod, M. C., McHenry, R. S., Beckman, E. J., & Roberts, C. B. (۲۰۰۳). Synthesis and stabilization of silver metallic nanoparticles and premetallic intermediates in perfluoropolyether/CO₂ reverse micelle systems. *The Journal of Physical Chemistry B*, ۱۰۷(۱۲), ۲۶۹۳-۲۷۰۰.

୨୧- He, B., Tan, J. J., Liew, K. Y., & Liu, H. (୨୦୦୧). Synthesis of size controlled Ag nanoparticles. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, ୧୭୧(୧), ୧୨୧-୧୨୬.

୨୨- Faure, C., Derré, A., & Neri, W. (୨୦୦୩). Spontaneous formation of silver nanoparticles in multilamellar vesicles. *The Journal of Physical Chemistry B*, ୧୦୪(୨୦), ୧୧୩୮-୧୧୪୬.

୨୩- Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J., & Whyman, R. (୧୯୯୧). Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (୧), ୮୦୧-୮୦୨.

୨୪- Zhang, Y., Chen, F., Zhuang, J., Tang, Y., Wang, D., Wang, Y., & Ren, N. (୨୦୦୨). Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. *Chem. Commun.*, (୨୩), ୨୮୧୧-୨୮୧୨.

୨୫- Hornebecq, V., Antonietti, M., Cardinal, T., & Treguer-Delapierre, M. (୨୦୦୩). Stable silver nanoparticles immobilized in mesoporous silica. *Chemistry of materials*, ୧୫(୧୦), ୧୯୯୩-୧୯୯୯.

୨୬- Leopold, N., & Lendl, B. (୨୦୦୩). A new method for fast preparation of highly surface-enhanced Raman scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride. *The Journal of Physical Chemistry B*, ୧୦୪(୨୧), ୧୧୨୩-୧୧୨୮.

୨୭- Chen, D. H., & Huang, Y. W. (୨୦୦୨). Spontaneous formation of Ag nanoparticles in dimethylacetamide solution of poly (ethylene glycol). *Journal of colloid and interface science*, ୨୦୨(୨), ୨୯୯-୩୦୨.

୨୮- Shchukin, D. G., Radtchenko, I. L., & Sukhorukov, G. B. (୨୦୦୩). Photoinduced reduction of silver inside microscale polyelectrolyte capsules. *ChemPhysChem*, ୧(୧୦), ୧୧୦୧-୧୧୦୩.

୨୯- Zhang JP, Sheng LQ, Chen P. Synthesis of various types of silver nanoparticles used as physical developing nuclei in photographic science. *Chin Chem Letters*. ୨୦୦୩; ୧୧(୧):୬୧୦-୮.

୩୦- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K., & Paknikar, K. M. (୨୦୦୩). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY୩. *Nanotechnology*, ୧୧(୧), ୯୦-୧୦୦.

٤٤- Bhainsa KC, D'Souza SF. Development of a preliminary. Biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus Fumigatus*. BI. ٢٠٠٦; ٤٧:١٦٠-١٦٤.

٤٥- Braydich-Stolle, L., Hussain, S., Schlager, J. J., & Hofmann, M. C. (٢٠٠٥). In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological sciences*, ٨٨(٢), ٤١٢-٤١٩.

٤٦- Peričin, D., Krimer, V., Trivić, S., & Radulović, L. (٢٠٠٩). The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*, ١١٣(٢), ٤٥٠-٤٥٦.

٤٧- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., & Tanaka, T. (٢٠٠١). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, ٧٩(٢), ٩٥-١١٥.

٤٨- Susan WP, Williw GH, Maaike Van J. Nanosilver a review
Of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. NT. ٢٠٠٩; ٣(٢); ١٠٩-١٣٨.